UC-NRLF
B 3 778 052

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO

Biochemische Zeitschrift

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., F. Czapek-Leipzig, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, J. Feigl-Hamburg, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Hári-Budapest, E. Hägglund-Åbo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin-Dahlem, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, A. Koch-Göttingen, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Greifswald, L. Michaelis-Berlin, H. Molisch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-St. Petersburg, A. Scheunert-Berlin, A. Schloßmann-Düsseldorf, N. Sieber-St. Petersburg, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Liestal, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., K. Suto-Kanazawa, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundvierzehnter Band

Berlin
Verlag von Julius Springer
1921

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Parnas, J. K. Neue Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Frösche 1

Němec, Antonín und **Václav Káš.** Über den Einfluß des Selens auf die Entwicklung einiger Schimmelpilze aus der Gattung Penicillium 12

Buzinyák, Stefan. Eine Methode zur Bestimmung der Chloride in kleinen Flüssigkeitsmengen 23

Herxfeld, E. und **R. Klinger.** Gibt es Abwehrfermente gegen Polysaccharide? 27

Cobet, Rudolf. Über Kochsalzresorption im unteren Dünndarm . . 33

Richter-Quittner, M. Bemerkungen über den Blutkalk 58

Sasaki, Takaoki. Über eine Farbenreaktion von Glycinanhydrid und der Dipeptidanhydride, welche eine Glycylkomponente in sich schließen 63

Hirai, Kinsaburo. Über die Synthese des d, l-3,4-Dioxyphenylalanins 67

– Über die Bildung von p-Oxyphenylessigsäure und p-Oxyphenylacrylsäure aus l-Tyrosin durch Bakterien 71

Otsuka, Ichiro. Über den Einfluß verschiedener Metallsalze auf die Bildung bakterieller Abbauprodukte von Aminosäuren 81

Ege, Rich. Wie ist die Verteilung der Glucose zwischen den roten Blutkörperchen und der äußeren Flüssigkeit zu erklären? Zur Physiologie des Blutzuckers. V. 88

Völtz, W., **W. Dietrich** und **A. Deutschland.** Die Verdaulichkeit und Verwertung der Nährstoffe des Ölpilzes (Endomyces vernalis Ludwig) durch Carnivoren und Herbivoren (Wiederkäuer) . . . 111

Starlinger, Wilhelm. Über Agglutination und Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten 129

Falta, W. und **M. Richter-Quittner.** Über die chemische Zusammensetzung der Blutkörperchen 145

Jacoby, Martin. Über die auxoureatische Funktion des Serums . 152

Bernstein, A. Über Adrenalinglykämie 157

Lang, S. und **H. Lang.** Über den Einfluß von Fluornatrium auf die Wirkung der Pankreasdiastase 165

Meyer, Hans. Studien zur Methodik der refraktometrischen Serumuntersuchung auf Abwehrfermente (Mikro-Abderhalden-Reaktion) 194

Zandrén, Sven. Die Tageskurve der Stalagmone 211

Bau, Arminius. Die Bestimmung der Oxalsäure und der Oxalursäure im Harn und im Kot 221

Seite

Ruß, V. K. und **E. Oesterlin.** Studien über die Phyto-Hämagglutinine 258

Euler, H. v., I. Laurin und **A. Pettersson.** Anpassung einer Oberhefe an das Gärsubstrat Galaktose 277

Kleßling, Werner. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens am isolierten Froschherzen 292

Iversen, Poul. Untersuchungen über die Verteilung der Phosphate zwischen Blutkörperchen und Plasma innerhalb und außerhalb des Organismus 297

Falta, W. und **M. Richter-Quittner.** Studien über die Faserstoffgerinnung. II. Über das „gebundene" Chlor im Blute 310

Autorenverzeichnis 318

Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

U.C. MEDICAL CENTER LIBRARY
JAN 2 1962
San Francisco, 22

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, **C. von Noorden**-Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **F. Czapek**-Lemberg, **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **J. Feigl**-Hamburg, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **H. Freundlich**-Berlin-Dahlem, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **P. Hári**-Budapest, **E. Hägglund**-Åbo, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **V. Henriques**-Kopenhagen, **R. O. Herzog**-Berlin-Dahlem, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **A. Koch**-Göttingen, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Greifswald, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molisch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **E. Münzer**-Prag, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **P. Rona**-Berlin, **H. Sachs**-Heidelberg, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **A. Scheunert**-Berlin, **N. Sieber**-St. Petersburg, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Liestal, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **K. Suto**-Kanazawa, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoma**-Berlin, **P. Trendelenburg**-Rostock, **O. Warburg**-Berlin, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundvierzehnter Band

Erstes bis zweites Heft

Ausgegeben am 4. Februar 1921

Berlin

Verlag von Julius Springer

1921

Die **Biochemische Zeitschrift**

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 48.—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens 2 Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Redakteur,

Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,

zu richten.

Die Verfasser erhalten 60 Sonderabdrücke ihrer Abhandlungen kostenfrei, weitere gegen Berechnung. Für den 16 seitigen Druckbogen wird ein Honorar von M. 40.— gezahlt.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

114. Band. Inhaltsverzeichnis. 1. 2. Heft.

Seite

Parnas, J. K. Neue Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Frösche 1

Němec, Antonín und **Václav Kás.** Über den Einfluß des Selens auf die Entwicklung einiger Schimmelpilze aus der Gattung Penicillium 12

Rusznyák, Stefan. Eine Methode zur Bestimmung der Chloride in kleinen Flüssigkeitsmengen 23

Herzfeld, E. und **R. Klinger.** Gibt es Abwehrfermente gegen Polysaccharide? 27

Cobet, Rudolf. Über Kochsalzresorption im unteren Dünndarm . . 33

Richter-Quittner, M. Bemerkungen über den Blutkalk 58

Sasaki, Takaoki. Über eine Farbenreaktion von Glycinanhydrid und der Dipeptidanhydride, welche eine Glycylkomponente in sich schließen 63

Hirai, Kinsaburo. Über die Synthese des d,l-3,4-Dioxyphenylalanins 67

Hirai, Kinsaburo. Über die Bildung von p-Oxyphenylessigsäure und p-Oxyphenylacrylsäure aus l-Tyrosin durch Bakterien 71

Otsuka, Ichiro. Über den Einfluß verschiedener Metallsalze auf die Bildung bakterieller Abbauprodukte von Aminosäuren 81

Ege, Rich. Wie ist die Verteilung der Glucose zwischen den roten Blutkörperchen und der äußeren Flüssigkeit zu erklären? . . . 88

Neue Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Frösche.

Von

J. K. Parnas (Lemberg).

(Eingegangen am 15. Oktober 1920.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Unter den Süßwassertieren, die den Salzgehalt und den konstanten osmotischen Druck ihrer Körpersäfte gegen ein sehr salzarmes Außenmedium erhalten, haben die Amphibien eine anscheinend besonders schwierige Stellung. Während die Körperoberfläche der im Wasser lebenden Säuger und Vögel, sowie der Reptilien durch eine für Wasser undurchdringliche Haut vor dem Wasserzutritt geschützt ist, die der kiemenatmenden Fische und Arthropoden wenigstens bis auf die atmende Kiemenfläche bedeckt ist, sind die Amphibien auf der ganzen Körperoberfläche mit einer eigenartigen Haut bedeckt, welche für Wasser permeabel ist, Atmungszwecken dient und den von ihr umschlossenen Körper dem Wasserzutritt offen läßt. Und doch erhalten die Frösche ihre Salzvorräte und einen konstanten osmotischen Druck auch ohne äußere Zufuhr von Salzen, die nur mit der Nahrung erfolgt, aufrecht. Die Gefrierpunkterniedrigung des Froschblutes beträgt z. B. $\Delta = 0{,}465°$ (während das Süßwasser bei $-0{,}02°$ bis $-0{,}04°$ gefriert), und sie bleibt auch in der langen nahrungslosen Winterzeit kaum verändert!

Die Permeabilität der Froschhaut für Wasser ist eine seit langem beobachtete Tatsache. Schon im Jahre 1795 schreibt Townson[1]):

„Quam gravis ea sit utilitas cutis generi Ranae ejusque congeneri Salamandrae apparebit ex hac commentatione, ex qua intelligitur, cum ea

[1]) Observationes physiologicae de Amphibiis. Göttingen 1795, zit. nach Ecker Gaupp, Anatomie des Frosches.

animalia, quorum oeconomiam optime novimus, maximam liquidorum copiam recipiant ore, haec contra reciperi cute sola, omni, quod ingerant, fluido aquoso absorpto per cutem, bibunt enim numquam, omnique pariter quod egerunt per eundem transpirante."

Diese Beobachtungen sind später öfter bestätigt worden, so z. B. von A. Durig[1]). Es wurde aber auch festgestellt, daß die Frösche nicht nur Wasser von außen nach innen aufnehmen, sondern auch Wasser durch die Haut abgeben können, wenn man sie z. B. in Salzlösungen legt (P. Bert). Ja, es zeigte sich, daß die Fähigkeit, einen konstanten osmotischen Druck aufrechtzuerhalten, durchaus einseitig entwickelt ist: die Frösche behalten ihren osmotischen Druck und ihren Salzgehalt in Brunnenwasser, also bei einem nach innen gerichteten Diffusionsgefälle, sie sind dagegen wehrlos gegen ein osmotisches Druckgefälle, das nach innen gerichtet ist, und geben ihr Wasser nach außen ab, wenn sie von einer hypertonischen Salzlösung umspült sind.

Der Wasserhaushalt der Amphibien ist am gründlichsten von Overton studiert worden; diese Untersuchungen führten zu den 39 Thesen über den Wasserstoffwechsel der Amphibien[2]). Overton verschloß Fröschen die Kloaken und setzte sie in reines Wasser. Das Wasser, welches durch die Haut resorbiert worden ist, wurde durch die Niere als sehr verdünnter Harn[3]) ausgeschieden und sammelte sich in der Kloake, stieg dann von da aus in den Darmkanal zurück. Durch Wägungen konnte man die Menge des aufgenommenen Wassers ermitteln, da es innerhalb des Körpers (in der Kloake) aufgesammelt wurde. Aufnahme durch das Maul war ausgeschlossen. Wenn der Frosch in Salzlösungen gebracht wurde, dann nahm sein Gewicht langsamer zu als in reinem Wasser, in 0,6 bis 0,77 Salzlösungen behielt der Frosch sein Anfangsgewicht. In höher konzentrierten Salzlösungen nimmt das Gewicht der Frösche ab (P. Bert, B. Brunacci).

Diese Tatsachen interpretierte Overton auf Grund der Annahme, daß die Froschhaut für Wasser durchlässig, für Salze undurchlässig sei. Der Frosch gleicht also einer mit Salzlösung gefüllten, in Wasser getauchten Pfefferschen Zelle, in

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol., herausgegeben v. Pflüger **85**, 446. 1901.
[2]) Verhandl. d. physiol.-med. Ges. zu Würzburg **36**, 272. 1904.
[3]) Toda und Tagudei, Zeitschr. f. physiol. Chemie **87**, 831. 1913.

welche Wasser dauernd hineindiffundiert. Durch die Niere wird es dann wieder herausgefördert[1]). Eine besondere Stütze für die Annahme der Halbdurchlässigkeit der Froschhaut erblickte Overton in der Ungiftigkeit der Kalisalze, welche im umgebenden Wasser in solchen Konzentrationen unschädlich waren, die bei subcutaner Beibringung sofort giftig wirkten.

Nach der Annahme von Overton müßte der Frosch in hypertonischen Salzlösungen einfach schrumpfen, das Wasser seiner Säfte und Gewebe solange an die molekular-konzentriertere Umgebung abgeben, bis die Konzentration des inneren und äußeren Milieus sich ausgeglichen haben; er müßte sich folglich im Medium von höheren Molekularkonzentrationen ähnlich verhalten, wie ein rotes Blutkörperchen, daß in einer hypertonischen Salzlösung schrumpft.

Diese überaus einfache Erklärung, welche die Eigenart des osmotischen Verhaltens der Amphibien in die Haut dieser Tiere verlegt, regte zu einer Anzahl Fragestellungen an und führte St. v. Przyłęcki zu einer Neubearbeitung der ganzen Frage, die im Physiologisch chemischen Institut der Universität Warschau, das damals unter meiner Leitung stand, in den Jahren 1916—1919 durchgeführt wurde. Da diese Arbeiten bis jetzt nur teilweise und in polnischer Sprache mitgeteilt worden sind[2]), so mag vielleicht ein vorläufiger zusammenfassender Bericht über die Ergebnisse erwünscht sein.

Die Funktion der Haut und ihre Fähigkeit, den Flüssigkeitsstrom zu beeinflussen, wurde in Versuchen geprüft, in welchen die Nierentätigkeit durch Abbinden der Ureteren ausgeschaltet worden ist. So vorbehandelte Frösche (es wurden stets Esculenten benutzt) sollten — nach der Annahme einer semipermeablen Haut — sehr stark aufquellen; es zeigte sich aber, daß die Tiere

[1]) „Die Haut der Amphibien hat ungefähr dieselben osmotischen Eigenschaften, wie die Plasmahaut der Zellen, sie ist nach beiden Richtungen permeabel für die lipoidlöslichen Stoffe und für Wasser und im Vergleich dazu impermeabel für die lipoidlöslichen Stoffe; daher saugt der von der Haut umschlossene Körper fortwährend Wasser an und müßte demnach auch quellen, wenn nicht dem osmotischen Einstrom durch kontinuierliche Nierenarbeit vollzogener Wasserexport die Wage hält"; (Hoeber, Physikalische Wärme der Zelle und Gewebe, 13. Kap. S. 626—627. 4. Aufl. 1914).

[2]) Comptes Rendus de la Société des Sciences de Varsovie 1918 und 1919.

im Laufe des ersten Tages noch Wasser aufnehmen, daß dann aber der Einstrom abnimmt und aufhört, während die Tiere noch am Leben, munter und beweglich sind; dabei ist die Molekularkonzentration ihres Blutes nur wenig merklich gesunken und das gewaltige osmotische Gefälle zwischen dem Milieu intérieur und dem Milieu extérieur bleibt bestehen. Es müssen folglich in der Haut Einrichtungen bestehen, welche in Abhängigkeit von der Bewässerung der Gewebe stehen und die Wasserzufuhr regeln.

Es stellte sich aber in der Folge heraus, daß die Undurchlässigkeit der Haut für lipoidunlösliche Stoffe (Salze) gar nicht besteht. Der klassische Versuch von Overton, nach dem ein Frosch in 0,81 KCl leben kann, und keinerlei Vergiftungserscheinungen eintreten, obwohl 0,11 KCl im Blut lähmend wirkt, erwies sich einer anderen Deutung zugänglich. Bei Fröschen, welche mit verschlossener (zugebundener) Kloake in KCl-Lösungen saßen[1]), fand Przyłęcki erhebliche Kaliummengen im Harn, und der Harn solcher Tiere lähmte bei subcutaner Einbringung andere Frösche. Die Froschhaut war also für Kalisalze durchlässig, nur wurden diese Salze durch die Niere so schnell ausgeschieden, daß eine Anreicherung im Blute nicht stattfinden konnte. Auf die besondere Affinität des Froschnierengewebes für Kalisalze, die A. Siebeck[2]) beobachtet hatte, sei hier nur hingewiesen.

Die Froschhaut ist folglich weder für Wasser unbedingt durchlässig, noch für Salze undurchlässig; sie ist aber auch für andere lipoidunlösliche Stoffe leicht durchlässig. Przyłęcki fand bei Fröschen, welche in Zuckerlösungen saßen und deren Kloake und Maul verschlossen waren, eine Glucosurie von mehreren Prozenten und bis 2,5% Traubenzuckergehalt im Blute! Ebenso wie Traubenzucker wurde auch Rohrzucker und Milchzucker durch die Haut aufgesaugt und im Harn ausgeschieden.

Die Eigenart der osmoregulatorischen Einrichtungen des Frosches mußten also anderswo gesucht werden. Die Eigenschaften der Haut erklärten sie nicht. Um ein genaueres Bild

[1]) Frösche trinken niemals; um aber jeglichen Fehler auszuschließen, stellte Przyłęcki die Frösche auf Golzschen Froschkreuzen aufgebunden in die Lösungen ein, und zwar so, daß das Maul aus der Flüssigkeit herausragte.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **148**, 443. 1912.

der Vorgänge zu gewinnen, in welchen die Regulierung der Molekularkonzentration besteht, wurde eine Erhöhung der Molekularkonzentration des Milieu intérieur des Frosches in der Weise bewirkt, daß hypertonische Na_2SO_4-Lösungen intravenös eingespritzt wurden und der Verlauf der Störung (durch nacheinanderfolgende Gefrierpunktbestimmungen und Messung der Blutmenge durch Körperchenzählung) beobachtet wurde. Zunächst stellte sich heraus, daß genau wie beim homoiosmotischen Warmblütler die Störung zunächst beseitigt oder gemildert wird, indem Wasser aus den Geweben ins Blut einströmt und die osmotische Störung im Blute ausgleicht oder abschwächt; es konnte meist schon nach einer Stunde nach der Einspritzung die Rückkehr der Gefrierpunktdepression zum normalen Wert, zugleich aber auch durch Blutkörperchenzählung hydrämische Plethora festgestellt werden. In der gleichen Zeit fand eine erhöhte Harnflut statt, aber der Harn war immer von geringerer Molekularkonzentration, als gleichzeitig das Blutserum.

Nun verhielten sich die Frösche in der Beseitigung der osmotischen Störung, die durch Einspritzung von Na_2SO_4 oder NaCl ins Blut bewirkt wurde, verschieden je nachdem, ob sie sich in Wasser oder in trockener Luft befanden. Wenn sie sich im Wasser befanden, so wurde das eingespritzte Salz einfach in Form einer großen Menge normalen, sehr verdünnten Harns ausgeschieden; das verdünnende Wasser wurde offenbar in erster Linie aus den Geweben, dann aber sofort und reichlich durch die Haut nachgeliefert. Wenn der Frosch im Trocknen saß, dann verhielt sich die Sache anders: es blieb eine Störung der Molekularkonzentration im Blute bestehen, aber nicht destoweniger wurde eine reichliche Menge Harn abgesondert, der viel konzentrierter war, als normaler Froschharn, aber immer verdünnter, als das Blut des Tieres, das ihn ausgeschieden hatte.

Dadurch wurde Przyłęcki auf eine Eigenschaft der osmoregulatorischen Einrichtungen des Frosches aufmerksam gemacht, die bis jetzt nicht hervorgehoben worden ist: unter Umständen, unter welchen der homoiosmotische Warmblüter einen Harn ausscheidet, der höhere Molekularkonzentration besitzt als sein Milieu intérieur, und auf diese Weise die osmotische Störung beseitigt, scheidet der Frosch den osmotisch störenden Überschuß in Form einer hypotonischen Lösung aus, oder aber er kann

ihn nicht ausscheiden. Die Froschniere vermag nur einen solchen Harn auszuscheiden, der molekular verdünnter ist als das Blut, das die Niere durchströmt.

Die weiteren Versuche haben diese Auffassung voll bestätigt. Es wurden Bedingungen gewählt, unter welchen der Warmblüter hypertonischen Harn ausscheidet: Durst, Aufenthalt in strömender trockener Luft; und doch war der spärliche Harn stets verdünnter als das Blutserum.

Dasselbe war auch bei Tieren der Fall, die statt in Wasser in Salzlösungen, und zwar in Kochsalz oder Na_2SO_4 von steigendem Gehalt, gebracht worden sind. Nach Overtons Theorie wäre anzunehmen gewesen, daß in Lösungen, deren Molekularkonzentration die des Froschserums übersteigt, Wasser aus den Säften und Geweben ins äußere Medium austritt, bis die Konzentrationen sich ausgeglichen haben; dabei sollte eigentlich kein Harn gebildet werden oder es müßte ein hypertonischer Harn ausgeschieden werden, um die eingedickten Säfte doch dem normalen Salzgehalt näher zu bringen. In den Versuchen von Przyłęcki verhielten sich die Salzkonzentrationen im Blut und Harn folgendermaßen: wenn der Salzgehalt des äußeren Medium die Gefrierpunkterniedrigung über die des normalen Froschserums ($\Delta = 0{,}46$) gebracht wurde, dann begann auch der Gefrierpunkt des Froschserums zu sinken, es wurde dann auch Harn sezerniert, dessen Gefrierpunktdepression mit der des Blutes stieg und sich ihr langsam näherte; je höher die Depression in Blut und Harn, um so geringer die Harnmenge, und es trat schließlich Anurie und Tod ein, bevor sich die Kurven der Harn- und Blut-Gefrierpunktsdepression[1]) schnitten (bei $\Delta \sim 0{,}8$). Danach erscheint es höchst wahrscheinlich, daß der Frosch überhaupt keinen (an Salzen) hypertonischen Harn bereiten kann.

Danach war die Eigenart der osmoregulatorischen Einrichtungen der Amphibien in ihre Niere verlegt: die Haut ist ein weitgehend durchlässiges Gewebe; sie läßt normalerweise das Wasser durch, welches die Niere durch den Froschleib pumpt. Die Niere vermag Wasser (d. h. eine sehr verdünnte Lösung) mit großer Vollkommenheit aus dem Blut abzuscheiden, nicht aber durch Bereitung eines hypertonischen Harns das Blut von ge-

[1]) Abszisse: Gefrierpunktsdepression der Außenlösung; Ordinate: Gefrierpunktsdepression von Blut resp. Harn.

lösten überschüssigen Salzen zu befreien; dies kann nur unter Zuhilfenahme von großen Wassermengen geschehen. Das Blut wird dann wörtlich mit Wasser „durchgespült".

Bekanntlich hat die Froschniere mit der Säugetierniere wenig Ähnlichkeit. Das eigentümlichste an ihrem Bau ist die doppelte Blutgefäßversorgung: der Malpighische Knäuel wird von mächtigen Ästen der Aorta mit arteriellem Blut versorgt, dagegen bekommen die Epithelien der Harnkanälchen venöses Blut, daß aus dem Gebiet der Hinterbeine durch die (von den Vv. femorales abzweigenden) Vv. iliacae zuströmt. Die Froschniere war auch öfters das Objekt für Versuche, die unter Gesichtspunkten der allgemeinen Nierenphysiologie die doppelte Gefäßversorgung experimentell für eine Entscheidung über die Funktion von Knäuel und Kanälchenepithel nutzbar machen wollten (Nussbaum, Adami, Beddard).

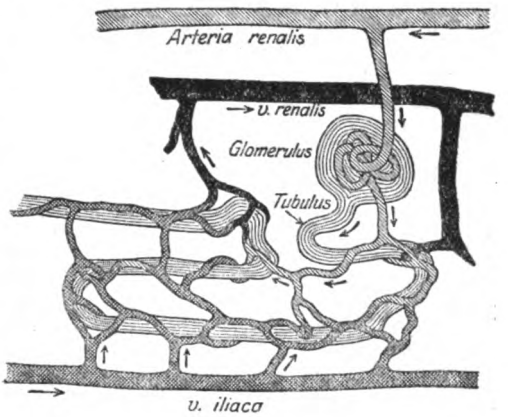


Abb. 1.

Die letzten Versuche dieser Art sind von Bainbridge, Menzies und Collins[1]) ausgeführt worden; es scheint, daß in diesen Versuchen Fehler vermieden worden sind, welche die Ergebnisse ihrer Vorgänger undeutlich machten. Die Niere wurde künstlich durchspült, und zwar wurde eine Durchspülungskanüle in die Aorta eingeführt, die andere in die V. abdominalis; die letztere in einer dem natürlichen Blutstrom entgegengesetzter Richtung, so, daß die Durchspülungsflüssigkeit durch die V. iliaca in die Niere floß und die gewundenen Tubuli durchströmte. Aus einer Kanüle, die in die Ureteren eingebunden war, wurde der Harn entnommen; die Durchspülungsgeschwindigkeit wird durch Messung der am V. cava abfließenden (vierte Kanüle) Flüssigkeit bestimmt.

Bainbridge, Menzies und Collins beobachteten, daß die

[1]) Journ. of physiol. **98**, 233. 1914.

Niere einen Harn absondert, der verdünnter ist als die Durchspülungsflüssigkeit (gut mit Sauerstoff versorgte Ringerlösung), wenn diese Flüssigkeit gleichzeitig durch die Aorta in den Glomerulus (bei 20—24 cm Wasserdruck) und durch die V. iliaca in die Tubuli fließt (10—12 cm Wasserdruck). Fließt Ringerlösung durch die Arterie allein, dann gibt es auch reichliche Harnbildung, der Harn ist dann auch verdünnter als die Durchspülungsflüssigkeit, jedoch in geringerem Grade als bei beiderseitiger Durchspülung; fließt aber die Lösung nur durch die Vene, dann gibt es keine Harnproduktion, außer wenn der Flüssigkeitsdruck Werte annimmt, die außerhalb der physiologischen liegen (40 cm Wasser). Wenn die Epithelien der Tubuli durch Sublimat von der Vene aus vergiftet werden, während die arterielle Durchspülung vor sich geht, dann produziert die Niere einen Harn, der sich nicht von der Durchspülungsflüssigkeit unterscheidet.

Bainbridge, Menzies und Collins deuten ihre Versuche in der folgenden plausiblen Weise: Aus dem Glomerulus fließt ein Filtrat, aus welchem die Epithelien der Tubuli Salz zurückresorbieren. Die Tatsache, daß die Niere im Versuch hypotonischen Harn produziert, wird übrigens von Bainbridge, Menzies und Collins nicht als eine besondere Tatsache der Physiologie des Frosches erkannt.

Die Ergebnisse von Przyłęcki und die Versuche und Auffassung der englischen Forscher stimmen vorzüglich zueinander. Die Froschniere kann nur hypotonischen Harn bereiten; durch Resorption von Kochsalz (und anderen Salzen) aus dem Glomerulusfiltrat, oder vielleicht auf andere Weise? Da venöse Durchspülung allein keine Harnbildung bereitet, erscheint eine Wassersekretion aus den Kanälchenepithelien sehr unwahrscheinlich. Przyłęcki hat nun einen anderen wichtigen Grund gegen eine solche Annahme gefunden. Er untersuchte den Reststickstoff im Blut und den Harnstickstoff bei Fröschen, welche unter verschiedenen Bedingungen der Wasserzufuhr (also in Wasser, im Trocknen) gehalten wurden; auch die Temperatur wurde variiert. Es wurde unter allen Umständen gefunden, daß der Harn an Stickstoff reicher war als das Blut an nichtkolloidem Stickstoff.

Die beiden Tatsachengruppen, nämlich daß der Harn

an Salzen stets ärmer,

an Stickstoff stets reicher

ist als das Blutserum, lassen in Verbindung mit den Versuchen der englischen Forscher die folgende Deutung zu:

Im Glomerulus wird ein mit dem Blutplasma isotonisches Filtrat abgepreßt, und aus diesem wird in den Tubuli contorti eine hypertonische Salzlösung zurückresorbiert; diese Salzlösung mag im übrigen Zucker usw. mitenthalten. Auf diese Weise verbleibt der an Salzen hypotonische, an Exkretionsprodukten angereicherte Harn.

„Der Frosch ist ein Wassertier, es besteht für ihn keine Notwendigkeit, mit Wasser zu sparen, und tatsächlich wurde gefunden, daß die in 24 Stunden sezernierte Harnmenge das Körpergewicht übersteigen kann. Wahrscheinlich würde es möglich sein, die Exkretionsprodukte durch bloße Filtration zu entfernen; es ist aber wichtig, daß wertvolle Substanzen, wie Kochsalz und Glucose, die sich im Filtrat befinden, zurückgehalten werden." (Bayliß, Principles of General Physiology, 2. Aufl. 1918, S. 355.)

Worin besteht nun die Eigenart der Froschniere? Cushny (Secretion of urine, London 1917, S. 44) hat in seiner „modernen Theorie" der Nierensekretion die Vorstellung entwickelt, daß in der Warmblüterniere das Glomerulusfiltrat in den gewundenen Harnkanälchen dadurch verändert wird, daß die Epithelien eine Lösung zurückresorbieren, deren Zusammensetzung unter allen Umständen konstant ist und mit der einer idealen Locke-Ringerlösung übereinstimmt. Die zurückresorbierte Flüssigkeit enthält die normalen nichtkolloiden Bestandteile des Plasmas in demselben Verhältnis, wie sie im Plasma enthalten sind, also die normalen Salze, Traubenzucker-Aminosäuren usw.; Exkretionsprodukte, wie Harnstoff, fremde Salze usw., werden nicht zurückgenommen. Die Epithelzellen der Tubuli haben also die Fähigkeit, eine Flüssigkeit zu resorbieren, wie sie dem Organismus am besten paßt und die in ihrer Zusammensetzung mit dem Blut, ohne seine kolloiden Bestandteile, übereinstimmt. Wenn das Plasma, also auch das Glomerulusfiltrat, Kochsalz oder Zucker im Überschuß enthält, dann kehren diese Körper in der optimalen oder „Schwellenkonzentration" durch die Epithelien der Tubuli ins Blut zurück, der Überschuß entweicht im Harn. Wenn das Blut und folglich das Glomerulus-

filtrat wässerig ist, dann wird durch Abzug einer normalen, also konzentrierteren Lösung der Überschuß an Wasser im Harn zurückgelassen. Die Absorption in den Kanälchen geschieht „ohne Wahl", die absorbierte Flüssigkeit ist immer gleich, unabhängig von den Bedürfnissen des Organismus; eine Grenze ist durch die osmotische Gegenkraft gesetzt, welche die nichtabsorbierten Bestandteile der Flüssigkeit im Kanälchenlumen entwickelt und die sich im Maße, als Normallösung entzogen wird, soweit steigert, daß sie von den Kanälchenepithelien nicht mehr überwunden werden kann.

Wenn also die Kanälchenepithelien der Warmblüterniere die Eigenschaft besitzen, immer eine konstant zusammengesetzte, mit dem idealen Blutplasma (ohne Kolloide) übereinstimmende Lösung zurückzuabsorbieren, so besteht die Eigenart der Amphibienniere darin, daß ihre Kanälchen stets eine Kochsalzlösung von höherer Konzentration zurücksaugen, als sie dem normalen Froschplasma entspricht. Die Froschniere ist auf die strengste Salzökonomie eingerichtet, und darin besteht ihre Eigenart. Die Aufgabe, bei durchlässiger Körperoberfläche und bei monatelangem Fehlen von Ersatz aus der Nahrung den Gehalt an diffusiblen Salzen zu wahren, ist in der Weise gelöst, daß ein dauernd lebhafter Einstrom von Wasser aufrechterhalten wird, und dieses Wasser, von Kochsalz genau befreit, durch die Niere wieder ausgeschieden wird. Der Apparat, der dies in sehr vollkommener Weise besorgt, ist für die Aufgabe, bei Wassermangel Salze oder Krystalloide auszuscheiden, in keiner Weise eingerichtet und versagt ihr gegenüber vollkommen.

Die Froschniere ist bekanntlich kein der Warmblüterniere äquivalentes Organ, sie ist als Urniere anzusehen. Wie der funktionelle Unterschied, zu deren Annahme die hier mitgeteilten Untersuchungen geführt haben, mit den Unterschieden im Bau zusammenhängt, das entzieht sich noch der Beurteilung.

Im übrigen scheint der Mechanismus der Ausscheidung, das funktionelle Verhältnis von Glomerulus und Tubuli ähnlich zu sein wie beim Warmblüter. Przyłęcki hat interessante Beobachtungen über die Fähigkeit der Froschniere, Zucker zurückzuhalten, mitgeteilt. Wenn Winterfrösche aus dem kalten Bassin in Behälter übertragen wurden, die Wasser von 22° enthielten,

so trat bei ihnen heftige Glucosurie auf. Die Untersuchung des Blutzuckers zeigte, daß die Frösche einen solchen Blutzuckergehalt hatten, wie er im Hochsommer als normal angesehen wird (0,06 %), im Winter aber eine Hyperglykämie darstellt.

Die Niere, deren Permeabilität für Zucker auf den winterlichen Blutzuckergehalt eingestellt war, konnte dem sommerlichen zunächst nicht standhalten: es erfolgte Glucosurie. Nach 2—3 Tagen bei 22° verschwand der Harnzucker, obwohl der Blutzuckergehalt unverändert blieb und Glykogen reichlich vorhanden war; die Niere hatte sich auf die Permeabilität für Zucker eingestellt, welche der Temperatur von 22° entspricht.

Zusammenfassend können wir die osmoregulatorische Einrichtung, welche den Wasserhaushalt des Frosches beherrscht und den Salzbestand seiner Säfte und Gewebe schützt, folgendermaßen beschreiben:

Ein einwärts gerichteter Wasserstrom, der von der Haut sezerniert wird, schützt die Salze des Milieu intérieur; aus dem Blut und den Körpersäften wird das eingeströmte Wasser durch die Niere ausgeschieden; dieses Organ hält dabei die wertvollen Salze (NaCl) weitgehend zurück. Die ursprüngliche Harnlösung, die im Glomerulus abgepreßt wurde, wird im gewundenen Harnkanälchen dadurch verändert, daß eine konzentrierte Salzlösung von den Epithelien aus dem Lumen aufgenommen wird, als das (enteiweißte) Serum des Frosches. Diese Einrichtung schützt den Salzgehalt des Frosches vorzüglich, aber sie vermag es nicht, einen Überschuß von Salzen ohne Zuhilfenahme erheblicher Wassermengen, d. h. als konzentrierten Harn, abzuscheiden. Bezüglich anderer harnfähiger Stoffe, wie Harnstoff, verhält sich die Froschniere nicht anders als die Warmblüterniere.

Über den Einfluß des Selens auf die Entwicklung einiger Schimmelpilze aus der Gattung Penicillium.

Von

Antonin Němec und **Václav Káš.**

(Aus der Biochemischen Abteilung der Staatlichen Versuchsanstalt für Pflanzenproduktion in Prag.)

(*Eingegangen am 31. Oktober 1920.*)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Bei Gelegenheit einiger Untersuchungen, welche Herr Ing. V. Jánský auf Veranlassung des Herrn Prof. Stoklasa über den Einfluß des Selens auf die Entwicklung höherer Pflanzen durchführte, haben wir beobachtet, daß in den Wasserkulturgefäßen, in welchen zu der Nährlösung eine bestimmte Menge von Natriumselenit zugesetzt wurde, längere Zeit nach dem Abschluß der Vegetationsversuche ein auffallend üppiges Wachstum der Schimmelpilze erschien. Übrigens zeigten die Wasserkulturversuche Jánskýs[1]), die er mit Mais ausführte, sehr interessante Resultate. Es wurden 5 Versuchsreihen der Wasserkulturen angesetzt, und zwar außer der Kontrollversuche (ohne Selen) Gefäße mit 0,000443, 0,00443, 0,0443 und 0,443 g Atomgewicht Selen in Form vom selenigsauren Natrium auf 1 Liter Nährstofflösung. Bei letzter Versuchsreihe wurde toxische Wirkung schon während 24 Stunden beobachtet. Auch in den restlichen Versuchsreihen zeigte sich während einiger Zeit schädliche Wirkung, nur bei der ersten Versuchsreihe (mit 0,000443 g Atomgewicht Selen) konnte eine merklich günstige Wirkung des Natriumselenits festgestellt werden. Die Maispflanzen zeigten ein üppiges Wachstum, man konnte eine größere Ausbreitung und mächtigere Sprossung der Versuchspflanzen beobachten. Weiter wurde gekennzeichnet, daß während bei der Kontrollreihe die Pflanzen schon die Rispe austrieben, dieselbe

[1]) V. Jánský, Dissertationsarbeit. Tschechische technische Hochschule, Prag 1920.

der ersten Pflanzengruppe zu gleicher Zeit noch verdeckt und vollständig grün war. Bei der ersten Versuchsreihe wurde ein Mehrertrag an Trockensubstanz von 24,93% geerntet, während bei den folgenden Reihen ein Minderertrag von 50,37%, 88,71% und 93,55% konstatiert wurde.

Unsere Beobachtung des üppigen Wachstums der Schimmelpilze in den selenhaltigen Nährlösungen der Wasserkulturgefäße (die Schimmelpilze waren der Gattung Penicillium), führte uns auf die Idee, den Einfluß selenhaltiger Salze auf die Entwicklung, das Wachstum und auf die Sporulation zu studieren. In dieser Richtung erinnerten wir uns der schönen Versuche, welche besonders von seiten der französischen Forscher Javillier und Bertrand verfolgt wurden, und welche von der grundlegenden Studie Raulins[1]) ausgingen.

Sind Selensalze befähigt bei Anwesenheit von Zink und Mangan die Schimmelpilzernte zu erhöhen?

Die obenerwähnte Beobachtung des üppigen Schimmelpilzwachstums auf Selennährlösungen veranlaßte uns, Versuche anzustellen, ob auch Selensalze in äußerst kleinen Mengen imstande sind, die Erträge der Schimmelpilzernte in analoger Weise zu erhöhen, wie es bei Zink-, Mangan- und anderen bereits erwähnten Salzen der Fall ist. In erster Reihe wollten wir uns überzeugen, ob durch Zugabe von Selensalzen zu den Nährlösungen mit Zink und Mangan, welche bis jetzt die günstigste Wirkung auf die Schimmelpilzentwicklung ausübten, noch eine Steigerung der Ernteerträge zu erwarten wäre.

Unsere Kenntnisse über die physiologische Rolle des Selens im Pflanzenorganismus sind sehr spärlich und lückenhaft. Cameron[2]) sprach die Anschauung aus, daß das Selen einigermaßen den Schwefel im pflanzlichen Stoffwechsel ersetzen kann, welche Ansicht jedoch nach Czapek[3]) durch keine Tatsache begründet ist. Schwache Gaben von Seleniten sind unschädlich und sollen im Boden für die Mineralstoffresorption durch die Wurzeln keine Bedeutung haben. Nach Angaben von Gassmann[3]) sind Spuren von seleniger Säure bei Tieren und Pflanzen weit verbreitet,

[1]) Raulin, Études chimiques sur la végétation, S. 169—170. Edition 1905.

[2]) Cameron, Royal Dublin Soc. Proc. 1879, S. 231, zitiert nach Czapek, Biochemie der Pflanzen, II. Teil, S. 515. 1920.

[3]) Gassmann, Zeitchr. f. physiol. Chemie **98**, 182. 1917; **100**, 209. 1917; **108**, 38. 1919.

welche Angaben jedoch von Fritsch[1]) widerlegt werden. Nach Bokorny[2]) läßt freie selenige Säure bei 0,1% keine Bakterien aufkommen; neutralisiert ist sie viel weniger schädlich. Nach den Angaben von Brenner[3]) wurde aus dem Bodenschlamm des Kieler Hafens eine Bakterienart gewonnen, welche zu dem Beijerinckschen Thiobacillus thioparus gehört, und welche sich nicht bei Gegenwart von Natriumselenit entwickelt. Aus der gleichen Schlammprobe isolierte aber Brenner ein anderes Bakterium, welches von ihm Micrococcus selenicus genannt wird. Seine Kultur gelang nur, wenn zu dem Nährmedium spurenweise Natriumselenit oder Natriumselenat zugesetzt wurde. Dieses Bakterium kann auch Natriumselenit als Nahrung benutzen.

Endlich gelang es Brenner aus der Schlammprobe noch ein Kurzstäbchen zu isolieren, das auf ziemlich stark selenhaltigen Nährböden (mit sehr wenig Kohlenstoffnahrung) wächst, sich aber sonst nicht von dem Typus der gewöhnlichen Aeroben unterscheidet.

Neuestens teilt Joachimoglu[4]) mit, daß die selenige Säure stärker auf Bakterien einwirkt als die Selensäure (Konzentrationen 1 : 5000 bis 1 : 20 000).

Die Versuchsmethodik.

Unsere Versuche wurden mit Reinkulturen der Schimmelpilze: Penicillium candidum (Penicillium album Epstein) und Penicillium Roqueforti Thom (Penicillium aromaticum cassei II. Ohlsen) ausgeführt. Als Grundsubstrat diente uns die Raulinsche Nährlösung, welche wir mit Rücksicht auf den speziellen Bedarf der angewandten Schimmelpilze, gemäß Angaben von Laxa[5]) und Dvořák ein wenig modifiziert haben. Es wurde statt Saccharose Lactose und an Stelle der Weinsäure Milchsäure verwendet. Bei unseren Untersuchungen wollten wir in erster Reihe feststellen, ob Natriumselenit bei Gegenwart von Zink und Mangan die Schimmelpilzernte erhöhen kann. Deswegen wurde zu der Nährlösung auch Zink in Form von Zinksulfat und Mangan als Carbonat zugesetzt.

Die Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

1000 ccm dest. Wasser, 46,6 g Lactose, 2,66 g Milchsäure, 0,40 g Kalicarbonat, 2,66 g Ammoniumnitrat, 0,40 g Ammoniumphosphat, 0,153 g Ammoniumsulfat, 0,710 g Magnesium-

[1]) Fritsch, Zeitschr. f. physiol. Chemie **104**, 59. 1918.

[2]) Bokorny, Zeitschr. f. angew. Chemie 1897, H. 11.

[3]) Brenner, Jahrb. f. wissensch. Botanik, S. 95—127, 1916.

[4]) Joachimoglu, diese Zeitschr. **107**, 300. 1920.

[5]) Laxa, „Über den Einfluß der Laktose und der Milchsäure auf die Zersetzung von Kasein durch die Mikroorganismen", Milchwirtschaftl. Zentralbl. 1907. — Dvořák, Rozpravy české akademie pro vědy, slovesnost a umění **36**, Nr. 31. 1917.

sulfat, 0,081 g Ammoniumeisensulfat, 0,046 g Kaliumsilikat, 0,081 g Zinksulfat, 0,081 g Mangancarbonat.

In dieser Nährlösung wurden die Schimmelpilze langsam an das Medium angepaßt.

Zur Kultivierung der Schimmelpilze bedienten wir uns Erlenmeyersche Kolben von 250 ccm Inhalt, welche mit 50 ccm der oben angeführten Nährlösung beschickt und bei konstanter Temperatur von 17° in einem Kellerlaboratorium belassen wurden.

Zu den eigentlichen Versuchen wurden 1 Liter Erlenmeyerkolben verwendet, welche zuerst gründlich mit heißer konzentrierter Schwefelsäure gereinigt, nachher mehrmals mit zweimal destilliertem Wasser sorgfältig abgespült wurden.

Alle angewendeten Salze waren chemisch rein und auf Reinheit von uns nochmals geprüft. In dieser Weise gereinigte Kolben wurden je mit 100 ccm der Nährlösung aufgefüllt, mit Wattestopfen verschlossen und im Autoklav bei 2 Atm. Überdruck sterilisiert.

Ein Kolben blieb immer als Kontrolle, den anderen wurde das Natriumselenit durch Verdünnung in steigenden Konzentration zugesetzt.

I.	Ohne Natriumselenit	(Kontrollversuch)
II.	1 Milliardstel g Natriumselenit	0,000000000455 g Se
III.	1 Hundertmillionstel g Natriumselenit . . .	0,00000000455 „ „
IV.	1 Zehnmillionstel g Natriumselenit	0,0000000455 „ „
V.	1 Millionstel g Natriumselenit	0,000000455 „ „
VI.	1 Hunderttausendstel g Natriumselenit . . .	0,00000455 „ „
VII.	1 Zehntausendstel g Natriumselenit	0,0000455 „ „

Das Selen wurde in Natriumselenit folgenderweise quantitativ bestimmt: 0,1 g Na_2SeO_3 wurde in 1000 ccm dest. Wasser gelöst, 200 ccm (0,02 g Na_2SeO_3) abpipetiert, durch 10 Tropfen konz. Salzsäure angesäuert, mit SO_2 gesättigt, gekocht und der ausgeschiedene rote Selenniederschlag mit Goochtiegel filtriert, bei 105° getrocknet und gewogen. Aus 200 ccm Lösung wurde 0,0092 g, beim Kontrollversuche 0,0090 g Se gewogen, also für 1000 ccm im Durchschnitt 0,0455 g Se (45,5%) gefunden, was mit dem berechneten Wert aus Na_2SeO_3 im besten Einklang steht (45,7%).

Die sterilisierten Kolben wurden aseptisch mit Sporen der genannten Penicilliumarten geimpft und bei konstanter Temperatur von 17° C in einem Kellerlaboratorium der Entwicklung überlassen. Tag für Tag wurde das Wachstum kontrolliert und die Beobachtungen protokolliert, wie aus folgenden Tabellen ersichtlich ist.

Tabelle I.

Penicillium Roqueforti.

Konzentration des Selens	Tage							
g	1	2	3	4	5	6	7	8
0	Keimung	Fortsetzung der Keimung	Bildung des Myceliums	Mycelium breitet sich aus	Die ganze Flüssigkeitsoberfläche ist mit feinem Mycelium bedeckt; Kolonienbildung beginnt.	Fortsetzung der Kolonienbildung, die Sporulation beginnt.	Fast ganze Oberfläche mit Sporen bedeckt.	Fortsetzung des Wachstums
0,000000000455	„	gesteigerte Keimung	besser als 0	mehr als in 0	besser als θ	Besser als θ, üppiges Wachstum, bessere Sporulation.	Ganze Oberfläche mit Sporen bedeckt; besser als θ	besser als θ
0,00000000455	„	„	„	„	„	„	„	„
0,0000000455	„	„	„	„	„	„	„	„
0,000000455	„	„	„	„	„	„	„	„
0,00000455	„	„	„	„	„	„	„	„
0,0000455	„	„	„	„	„	„	„	„

Tabelle II.

Penicillium candidum.

Konzentration des Selens g	Tage													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	—	—	Keimt, Mycelium-entwicklung	Kleine Kolonie unter der Flüssigkeitsoberfläche.	—	zwei kleine weiße Kolonien	mehrere weiße Kolonien	mehrere weiße Kolonien	geringes Wachstum	etwas besseres Wachstum		Die Entwicklung gegen anderen beträchtlich verzögert		
0,000000000455	—	—	„	nur Mycelium	Kleine weiße Kolonie auf der Flüssigkeitsoberfläche.	weiße Kolonie	besser als θ	besser als θ	Wachstum besser als θ	immer besser als bei θ		sehr üppiges Wachstum	sehr üppiges Wachstum	Die Wirkung des Selens auf das Wachstum kommt immer mehr zum Vorschein
0,00000000455	—	—	„	„	nur Mycelium	„	„	„	„	„	nicht kontrolliert	„	„	
0,0000000455	—	—	„	„	Mehrere weiße Kolonien auf der Flüssigkeitsoberfläche.	mehrere größere Kolonien	üppiges Wachstum	„	„	„		„	„	
0,000000455	—	—	—	—	—	—	—	—	üppigster	Kolonien am besten entwickelt		Kolonien am besten entwickelt	„	
0,00000455	—	—	Keimt, Myzelium-entwicklung	nur Mycelium	nur Mycelium	weiße Kolonien	besser als θ	besser als θ	—	—		—	—	
0,0000455	—	—	„	„	„	„	„	„	sehr üppiges Wachstum	wie bei erster Selendose		sehr üppiges Wachstum	sehr üppiges Wachstum	

Bemerkung: Versuch mit 0,000000455 g Se hat wegen wahrscheinlich nicht genügender Impfung versagt: es kamen überhaupt keine Kolonien zum Vorschein.

Aus unseren Beobachtungen während der Schimmelpilzentwicklung geht hervor, daß bei Penicillium Roqueforti die Sporen schon am ersten Tage keimen, während bei Penicillium candidum zu dieser Zeit noch nichts beobachtet wurde.

Man kann sagen, daß im allgemeinen, Penicillium candidum sich weit langsamer entwickelt. Es ist sehr interessant zu erwähnen, daß die Kolonien zuerst in den Kontrollversuchen gebildet werden, später aber sehr in ihrer Entwicklung verzögert sind. Ähnlich würde auch bei Penicillium Roqueforti ein merklich fördernder Einfluß des Selens beobachtet. Was die Sporulation betrifft, scheint es, daß Selen günstig einwirkt, und zwar beinahe so wie Mangan. Genauere Angaben in dieser Richtung werden in der folgenden Mitteilung publiziert.

Es wurde auch beobachtet, daß Penicillium candidum unter erwähnten Bedingungen gegenüber Selensalzen weit empfindlicher ist als Penicillium Roqueforti.

Die fördernde Wirkung des Selens trat während der ersten 14 Tage in einer so merklichen Weise hervor, daß wir am 15. Tage eine photographische Festhaltung des Bildes vornehmen konnten.

Zu dieser Zeit waren wir mit anderen Untersuchungen beschäftigt, die uns leider nicht erlaubten, die Selenversuche zu Ende zu führen.

Die Kulturen sind also noch weitere 14 Tage der Entwicklung überlassen worden.

Als wir dann die Versuche abgebrochen haben, um die Trockensubstanzgewichte der Myceldecken zu bestimmen, waren die Kulturen schon so weit in ihrer Entwicklung fortgeschritten, daß die Unterschiede sich größtenteils ausgeglichen haben. Die Dauer der Kulturen war also insgesamt 28 Tage. Die Kulturen wurden abgebrochen, das Mycelium mit Wasser abgespült und der Inhalt der Kolben durch Goochtiegel filtriert und mit dest. Wasser ausgewaschen. Sodann wurde im Trockenschrank bei 105° C getrocknet und bis zur Erreichung konstanten Gewichtes mehrmals gewogen. Bei den Versuchen mit Penicillium candidum wurde zwecks Bestimmung des Aschengehaltes und Analysen der Schimmelpilzaschen das Mycelium mit Schleicher-Schüllschen aschenfreien Filtern filtriert, getrocknet und gewogen. Die Trockensubstanz wurde in Platinschalen verascht und in der

Aschensubstanz Phosphorsäure nach dem Molybdänverfahren bestimmt.

Die Resultaten sind aus folgenden Tabellen ersichtlich:

Versuche mit Penicillium Roqueforti.

Versuch	Na_2SeO_3 zugesetzt in g	Se zugesetzt in g	Trockengewicht des Myceliums	Erhöhung des Trockensubstanzgewichtes in %
I.	—	—	0,3009	—
II.	0,000000001	0,0000000000455	0,3416	13,5
III.	0,00000001	0,00000000455	0,3767	25,1
IV.	0,0000001	0,0000000455	0,3832	27,3
V.	0,000001	0,000000455	0,3480	15,8
VI.	0,00001	0,00000455	0,4013	33,3
VII.	0,0001	0,0000455	0,4136	37,4

Versuche mit Penicillium candidum.

Versuch	Na_2SeO_3 zugesetzt in g	Se zugesetzt in g	Trockengewicht des Myceliums	Erhöhung des Trockensubstanzgewichtes in %
I.	—	—	1,3663	—
II.	0,000000001	0,0000000000455	1,3712	0,36
III.	0,00000001	0,00000000455	1,3727	0,47
IV.	0,0000001	0,0000000455	1,4072	3,00
V.	0,000001	0,000000455	1,3814	1,11
VI.	0,0001	0,0000455	1,3101	— 4,11

Durch diese Versuche, welche in Abb. 1 und 2 graphisch dargestellt sind, wurde dargetan, das selenigsaures Natron, auch in Gegenwart von Zink und Mangan, die Ernteerträge der Schimmelpilze noch zu steigern vermag.

Es hat uns jetzt die Frage interessiert, ob, und wieweit der Stoffwechsel der Schimmelpilze in den Selenversuchen beeinflußt wird[1]). An erster Stelle haben wir den Wert der Aschensubstanzen bestimmt und von diesen die Menge der Phosphorsäure, welche beinahe 50% von den Aschensubstanzen ausmacht,

[1]) Bertrand (Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **141**, 1255. 1905) hat beobachtet, daß bei Mangandüngung die Haferpflanzen mehr Asche enthielten. Ähnliche Beobachtung hat Passerini (Boll. Ist. agr. Scandici, 1905, S. 3) an Lupinen gemacht. Über Steigerung der Aschenbestandteile unter dem Einflusse von Mangan und Zink bei Schimmelpilzen berichtet Bertrand und Javillier (Ann. de l'Inst. Pasteur **26**, Nr. 7, S. 515. 1912).

in der Asche der verschiedenen Versuchsreihen mit Penicillium candidum festgestellt. Es hat sich gezeigt, daß die ersten zwei Selendosen die Menge der Aschenbestandteile zu steigern vermochten, in den restlichen hat die Gesamtmenge der Asche erheblich abgenommen.

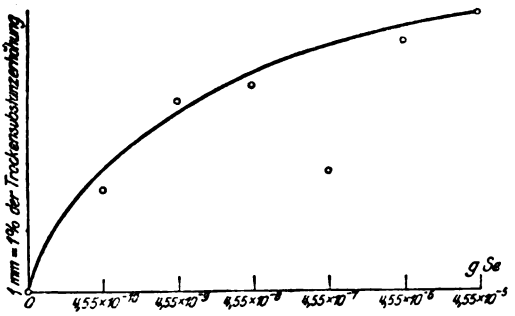


Abb. 1. Penicillium Roqueforti.

Der Wert der Phosphorsäure hat indessen in allen Selenversuchen abgenommen. Es ist aber sehr interessant zu bemerken, daß die Menge der Phosphorsäure nur in den Versuchen, welche eine Steigerung der Schimmelpilzernte zeigten, erheblich mit der

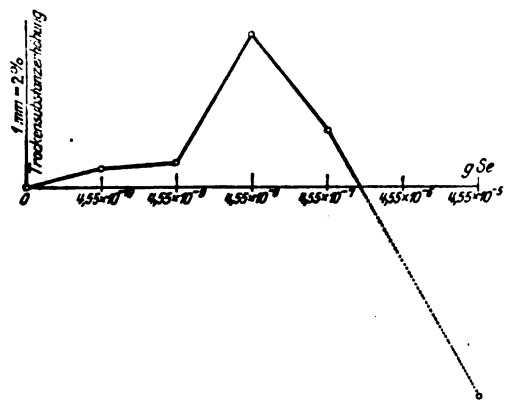


Abb. 2. Penicillium candidum.

wachsenden Selengabe abnahmen, indem aber bei höheren Selendosen, welche schon toxisch einwirkten, die Menge des P_2O_5 wieder merklich zunahm, so daß beinahe die Menge P_2O_5 in Kontrollversuchen erreicht wurde.

Versuche mit Penicillium candidum.

Versuch	zugesetzt Se in g	Menge der Asche in der Trocken-substanz des Myceliums in %	Menge P_2O_5 in der Trocken-substanz des Myceliums in %	Menge P_2O_5 in der Asche in %
I.	0	4,15	1,96	47,04
II.	0,000000000455	4,86	1,61	33,09
III.	0,00000000455	4,93	1,59	32,56
IV.	0,0000000455	4,11	1,54	37,56
V.	0,000000455	3,98	1,56	39,20
VI.	0,0000455	3,69	1,64	44,41

Die Versuchsergebnisse sind in Abb. 3 graphisch zusammengestellt.

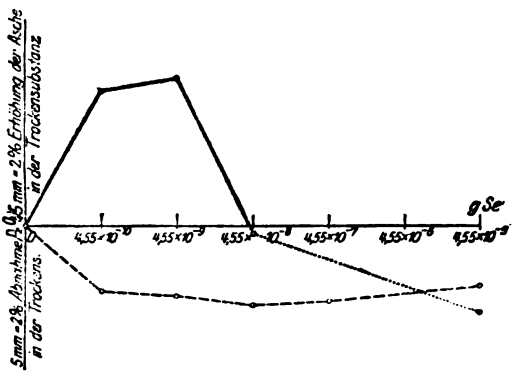


Abb. 8.

Aus den bisher angeführten Versuchen können wir folgende

Zusammenfassung

machen.

1. Selenigsaures Natrium in äußerst kleinen Dosen kann die Ernteerträge der Schimmelpilze aus der Gattung Penicillium auch bei Gegenwart von Zink und Mangan steigern.

2. Penicilliumcandidumscheintweitempfindlicher gegenüber Selensalzen zu sein als Penincillium Roqueforti.

3. Der Mineralstoffwechsel der Schimmelpilze wird durch Einwirkung des Selens beeinflußt, und zwar wird der Gesamtaschengehalt bei Penicillium candidum – soweit Selensalze fördernd wirken — gesteigert. Mit dem toxischen Einfluß des Selens sinkt auch die Menge der Aschenstoffe.

4. Die Menge der Phosphorsäure, welche bei Abwesenheit von Selensalzen beinahe 50% der Asche ausmacht, hat in allen Selenversuchen abgenommen. Indessen hat aber der Wert der Phosphorsäure nur in den Versuchen, welche eine Steigerung der Schimmelpilzernte zeigen, erheblich mit der wachsenden Selengabe abgenommen. Höhere Selendosen, welche schon schädigend einwirkten, zeigten eine merkliche Zunahme des P_2O_5, so daß beinahe die normale Menge der Phosphorsäure in den Schimmelpilzen erreicht wurde.

Bei Beendigung dieses Teiles unserer Arbeit erfüllen wir nur eine angenehme Pflicht, indem wir Herrn Prof. O. Laxa an der Böhmischen Technischen Hochschule in Prag und seinem Assistenten Herrn J. Prokš für das gütige Überlassen der Penicillium-Reinkulturen unseren verbindlichsten Dank aussprechen.

Eine Methode zur Bestimmung der Chloride in kleinen Flüssigkeitsmengen.

Von

Stefan Rusznyák.

(Aus der III. medizinischen Klinik Budapest.)

(Eingegangen am 5. November 1920.)

Mit 1 Abbildung im Text.

In einer früheren Arbeit[1]) konnte ich nachweisen, daß die Korányische Methode der Chloridbestimmung[2]), allen jenen Methoden, welche die Enteiweißung der Lösung durch Ausfällen bewirken, überlegen ist. Insbesondere konnte gezeigt werden, daß die Fällungsmethoden im Gegensatz zu der Korányischen, von einer gewissen Eiweißkonzentration an aufwärts, zu niedrige Chlorwerte ergeben, da ein Teil des Chlors an den Eiweißniederschlag adsorbiert wird. Ich konnte mich schon damals überzeugen, daß dem Bangschen Mikroverfahren, welches ebenfalls eine Fällungsmethode ist, derselbe Fehler anhaftet. Es schien daher aussichtsvoll, die Korányische Methode zu einem Mikroverfahren umzugestalten.

Nach zahlreichen Vorversuchen, welche ich hier nicht ausführlich mitteilen möchte, gelang es mir, ein Verfahren zu finden, welches geeignet erscheint, die Vorzüge der Korányischen Methode mit den Vorteilen der Mikromethoden zu verbinden. Ich werde hier zunächst das Verfahren ausführlich beschreiben und dann einige Belege für die Verwendbarkeit der Methode mitteilen.

Die Methode.

Zur Abmessung der zu untersuchenden Flüssigkeitsmengen bediente ich mich einer von Ernst[3]) angegebenen Capillarpipette. Die Pipette besteht aus einer dickwandigen gebogenen Capillare (*a*), welche ungefähr 8 cm von der Spitze mit einer Marke (*e*) versehen ist. Bei jeder Capillare wird das Volumen von der Spitze bis zur Marke genau bestimmt. Die

[1]) Rusznyák, diese Zeitschr. **110**, 60.

[2]) Korányi, Zeitschr. f. klin. Med. **33**.

[3]) Erscheint demnächst in der Wien. klin. Wochenschr.

Abmessungen der Capillare sollen derart sein, daß dieses Volumen ca. 0,110—0,130 ccm beträgt. Das andere Ende des Rohres ragt durch einen durchbohrten Stöpsel in eine kleine Saugflasche (*d*), welche aus dünnem Glase bereitet ist und ca. 15 ccm faßt.

Die Abmessung der Flüssigkeit geschieht auf folgende Weise. Durch Saugen am Ansatzrohr (*b*) wird die zu untersuchende Flüssigkeit genau bis zur Marke gesaugt, dann wird die der Capillare evtl. außen anhaftende Flüssigkeit abgewischt, durch weiteres Saugen der Inhalt der Capillare in die Flasche hineingesaugt und durch Nachsaugen von 1—2 ccm destillierten Wassers die Capillare gründlich ausgewaschen. Nun wird die Capillare samt Stöpsel entfernt und die Bestimmung des Chlors in der kleinen Flasche selbst vorgenommen.

Zu diesem Zwecke wird zunächst aus einer Mikrobürette $AgNO_2$ in Überschuß zugesetzt. Nach meinen Erfahrungen genügen für Blut, Serum usw. 1,60 ccm einer $^n/_{100}$-Lösung, für Urin je nach Chlorgehalt evtl. bedeutend mehr. Sodann fügt man 10 Tropfen von chlorfreier, konzentrierter Salpetersäure hinzu und erwärmt vorsichtig auf dem Drahtnetz. Während des Erwärmens setzt man aus einem Tropfglas einige Tropfen einer konzentrierten $KMnO_4$-Lösung zu; die durch die ersten Tropfen verursachte Färbung verschwindet schnell, es muß soviel Permanganat zugesetzt werden, daß die Färbung auch während des Kochens bestehen bleibt. Bei Serum genügen dazu 3—4 Tropfen, bei höheren Eiweißkonzentrationen, z. B. bei Blut, sind größere Mengen erforderlich. Es wird nun ca. 5 Minuten lang vorsichtig gekocht und dann eine Spur Dextrose zur Entfärbung des überschüssigen Permanganates zugesetzt. Bei richtiger Ausführung muß nach Auskühlen der Flüssigkeit das Silberchlorid in Form von kleinen weißen Klumpen am Boden des Gefäßes liegen, während die darüberstehende Lösung vollkommen farblos und wasserklar ist.

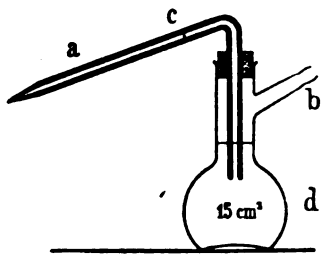


Abb. 1.

Die Menge des überschüssigen Silbernitrates wird jetzt mit einer $^n/_{100}$-Ammoniumrhodanidlösung titriert. Als Indicator benützt man hierbei das von Volhard angegebene Ferriammoniumalaun[1]) (4—5 Tropfen einer konzentrierten Lösung). Das Auftreten der Rotfärbung erfolgt dabei so scharf, daß man mit einiger Übung auf einen halben Tropfen genau titrieren kann. Am besten verfährt man so, daß man mit 1—2 Tropfen übertitriert, dann 2—3 Tropfen Silberlösung bis zur neuerlichen Entfärbung zusetzt und jetzt mit halben Tropfen der Rhodanidlösung den Umschlagspunkt genau bestimmt. Die Menge der Chloride in 100 ccm der Flüssigkeit (als Natriumchlorid berechnet) ergibt sich aus der folgenden Formel

$$\frac{\text{(zugefügte Silberlösung — verbrauchte Rhodanlösung)}}{\text{Capillarinhalt}} \cdot 0{,}0585 .$$

[1]) Evtl. mit einigen Tropfen HNO_3.

Kritik der Methode.

Die Genauigkeit der Methode ist recht zufriedenstellend und erreicht oft die der Korányischen Makromethode. Da die Technik einfach und der Farbenumschlag scharf ist, läßt sich schon durch eine geringe Übung erreichen, daß die Abweichungen bei Parallelbestimmungen 2% nicht überschreiten. Auch mit der Makromethode ist die Übereinstimmung eine gute. Hierfür seien folgende Belege mitgeteilt, wobei unter „Mikro" die Werte von Parallelbestimmungen mittels der Mikromethode, unter „Makro" die Mittelwerte von Bestimmungen mittels der Makromethode angeführt sind.

	Mikro	Makro
NaCl-Lösung	0,787—0,781	0,784
Magensaft	0,594—0,599	0,599
Blutserum	0,610—0,603	0,606
„	0,605—0,609	0,604
„	0,575—0,578	0,568
Ultrafiltrationsrest*)	0,557—0,551	0,559
„	0,556—0,557	0,557

*) Über den Sinn dieser Bezeichnung siehe meine oben angeführte Abhandlung.

Es erscheint unnötig, die Vorteile der beschriebenen Mikromethode gegenüber der Makromethode einzeln aufzuzählen, dagegen möchte ich einiges über das Verhältnis der Methode gegenüber der Bangschen Mikromethode erwähnen.

1. Es ist von prinzipieller Wichtigkeit, daß während die Bangsche Methode den Chlorgehalt in Gewichtsprozenten ergibt, hier das Ergebnis in Volumprozenten, d. h. in der wirklichen Konzentration ausgedrückt wird.

2. Die kostspielige Torsionswage entfällt und es wird anstatt dieser die leicht herstellbare Mikropipette eingeführt; auch das Papierstückchen, dessen Chloridfreiheit nicht immer verläßlich war, wird ausgeschaltet.

3. Eine große Fehlerquelle der Bangschen Methode lag in dem Umstand, daß nur genau 92proz. Alkohol zur Extraktion verwendet werden durfte. Ich habe mich des öfteren überzeugen können, daß schon geringe Abweichungen von der vorgeschriebenen Alkoholkonzentration das Resultat wesentlich beeinflußt haben. Dabei ist eine Änderung der Alkoholkonzentration auch in gut verschlossenen Flaschen kaum zu vermeiden.

4. Die Ausführung der Bestimmung ist in 10—15 Minuten beendet, während bei der Bangschen Methode die Extraktion allein 5 Stunden dauern soll.

5. Bei der Bangschen Methode ist der Farbenumschlag bei der Titrierung bei weitem nicht so scharf wie bei der beschriebenen.

6. Aus meiner oben erwähnten Mitteilung geht hervor, daß die Bangsche Methode zu den Ausfällungsmethoden gehört und deshalb bei gewissen hohen Eiweißkonzentrationen zu niedrige Chlorwerte ergibt. Daß Bang diese Tatsache nicht erkannt hat, erklärt sich aus dem Umstand, daß er seine Resultate ebenfalls mit einer Fällungsmethode kontrolliert hat[1]). Wie die Sache in Wirklichkeit steht, ergibt sich aus der folgenden Zusammenstellung.

	Spez. Gewicht	Bangsche Mikromethode		Makro	Mikro
		Gewichts-% gefunden	Volum-% berechnet		
Serum	1027	0,560	0,575	0,587	0,578
„	1030	0,557	0,574	0,569	0,576
Plasma. . . .	1033	0,580	0,599	0,643	0,647
Ultraf. Rest . .	1035	0,515	0,533	0,554	0,559
„ . .	1036	0,518	0,537	0,557	0,556
Blut defibriniert	1062	0,413	0,439	0,488	0,486

Es ist klar ersichtlich, daß die beiden letzten Kolumnen, also die Korányische Makro- und die aus dieser hervorgegangene Mikromethode, bei jeder Eiweißkonzentration gut übereinstimmende Resultate ergeben. Um diese Werte mit jenen der Bangschen Methode vergleichen zu können, mußten letztere mit Berücksichtigung der spezifischen Gewichte, auf Volumprozente umgerechnet werden. Die nun erfolgende Gegenüberstellung zeigt, daß von einem spez. Gewicht von 1030 an aufwärts die Bangsche Methode versagt und zu kleine Werte ergibt. Das Resultat ist also dasselbe wie bei den Makromethoden; die Fällungsmethoden sind bei gewissen Eiweißkonzentrationen, wie solche schon im Plasma vorkommen, unbrauchbar, und nur jene Methoden, welche das Eiweiß zerstören, ergeben richtige Werte.

Zusammenfassung.

Es wird eine Mikromethode zur Chloridbestimmung angegeben, welche im wesentlichen eine Umgestaltung der Korányischen Methode zu einem Mikroverfahren darstellt.

Die neue Methode ist von großer Genauigkeit und hat eine ganze Reihe von Vorzügen gegenüber der Bangschen Mikromethode.

[1]) Bang, Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. Wiesbaden 1916. S. 10.

Gibt es Abwehrfermente gegen Polysaccharide?

Von

E. Herzfeld und R. Klinger.

(Aus dem chem. Laboratorium der Med. Klinik und aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 16. November 1920.)

In zwei vorhergehenden Mitteilungen haben wir eine Methode beschrieben, welche den Nachweis sehr kleiner Mengen von Glucose und Maltose auch in einem eiweißreichen Milieu gestattet. Sie besteht im wesentlichen darin, daß durch Auskochen mit konzentriertem Alkohol der Zucker vom Eiweiß getrennt und dann mit Hilfe von HCl-saurem Phenylhydrazin und essigsaurem Na als Osazon nachgewiesen wird. Da es auf diese Weise gelingt, noch 1 mg der erwähnten Zucker festzustellen, so besitzen wir hierin ein Mittel, um in exakter Weise zu entscheiden, ob unter gewissen Bedingungen eine auch nur ganz geringfügige Aufspaltung höherer Kohlenhydrate stattfindet oder nicht. Diese Frage erhebt sich namentlich im Hinblick auf einige Feststellungen, die wir in den erwähnten Arbeiten gemacht haben und welche dafür sprechen, daß die meisten fermentativ wirksamen Flüssigkeiten keineswegs eine so schnelle und tiefgreifende Aufspaltung zustande bringen, als es der bisherigen Annahme entspricht.

Die Anwesenheit kohlenhydratspaltender Fermente wurde für die verschiedensten organischen Flüssigkeiten, speziell für das Blutserum vieler Tiere behauptet. Sie lenkte namentlich seit den Untersuchungen Abderhaldens und seiner Schüler[1]) das Interesse auch weiterer biologischer Kreise auf sich, da dieser Forscher durch seine Lehre von den Abwehrfermenten das Auftreten derartiger Fermente einem allgemeinen Gesetz des tierischen Organismus einordnete: durch parenterale Zufuhr höherer Kohlenhydrate, ja selbst schon von Disacchariden sollte (ähnlich wie dies auch für Eiweißkörper und Fette angenommen

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **64**, **67**; **71**. — Weinland, Zeitschr. f. Biol. **47**.

wird) die Bildung besonderer Fermente ausgelöst werden, die „die Aufgabe haben", den fremden Stoff möglichst schnell in die dem Körper vertrauten, niedern Bausteine aufzuspalten. Schon die ausgesprochen teleologischen Voraussetzungen und Nomenklatur dieser Theorie hätte Bedenken gegen dieselbe hervorrufen müssen; um so merkwürdiger ist es, daß auch die rein experimentellen Grundlagen derselben so wenig nachgeprüft wurden. Der Grund dürfte wenigstens z. T. darin liegen, daß das Interesse der meisten Biochemiker in den Jahren vor und nach Ausbruch des Krieges hauptsächlich durch die Polemik in Anspruch genommen wurde, welche um die Schwangerschaftsfermente entstanden war. Inzwischen geriet die ganze Frage unter der zunehmenden Kriegsnot fast in Vergessenheit. Da sie damit aber wissenschaftlich noch nicht erledigt ist, dürfte die Mitteilung der folgenden Versuche nicht überflüssig sein. Denn sie erbringen weitere Beweise gegen die Auffassung Abderhaldens und werden daher zu einer gründlichen Revision derselben beitragen.

Wir haben zunächst untersucht, ob das Serum der uns zur Verfügung stehenden Tierarten nicht schon an sich gewisse spaltende Fähigkeiten aufweist. Hierbei ergab sich, daß in der Tat von einer ganzen Anzahl von Tierseren sowohl Stärke (lösliche wie auch unlösliche) wie Glykogen in Glucose übergeführt wird, wenn sie einige Zeit mit diesen Polysacchariden (unter Ausschluß bakterieller Einwirkungen) stehengelassen werden. Auffallend ist, daß es sich hierbei um eine für jede Tierart ziemlich konstante Eigenschaft handelt, insofern, als bei gewissen Spezies das Serum aller Individuen aufspaltet, während es sich bei anderen Arten immer negativ verhält. Die folgende Zusammenstellung gibt unsere diesbezüglichen Resultate wieder:

Tierart	Zahl der geprüften Seren	Aufspaltung von	
		Glykogen	Stärke
Rind	6	+	+
Hund	3	+	+
Schwein	4	+	+
Ratte	2	+	+
Pferd	2	+	+
Mensch*)	12	—	—
Meerschweinchen .	7	—	—
Kaninchen . . .	8	—	—

*) Darunter ein Diabetesfall mit vermehrtem Blutzucker.

Technik: Je 1,0 g frisch gewonnenen Serums wird mit 1,0 einer 2proz. Lösung der angegebenen Kohlenhydrate (bei Stärke durch Auflösen in der Hitze gergestellt) versetzt und unter Toluol 24 Stunden bei 15—18° stehengelassen. Hierauf wird mit 20 ccm absoluten Alkohols versetzt und bis zum kräftigen Sieden des Alkohols im Wasserbad erhitzt. Der alkoholische Extrakt wird abfiltriert, in einer Porzellanschale eingedampft und der Rückstand abermals mit 15 ccm Alkohol versetzt und auf dem Wasserbade gründlich ausgekocht. Der alkoholische Extrakt wird hierauf vorsichtig in eine zweite Porzellanschale abgegossen und eingedampft, der Rückstand in 10 ccm Wasser gelöst und mit 1 g HCl-Phenylhydrazin + 1,5 g Natr. acet. (beide krystallisiert) versetzt. Die Lösung wird $1^1/_2$ Stunden im Wasserbad gekocht, heiß filtriert und stehengelassen. Aus dem Röhrchen scheiden sich bis zum nächsten Tage die Osazonkrystalle ab, welche mikroskopisch untersucht werden. Für die Beurteilung der Mengenverhältnisse dienen Vergleichsröhrchen, die auf dieselbe Weise gewonnen wurden, indem abgewogene Mengen (1—10 mg) Glucose oder Maltose in 10 ccm Wasser gelöst werden.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß viele Tiersera normalerweise Glykogen und Stärke in Glucose überzuführen vermögen, während andere Tierarten diese Eigenschaft nicht besitzen. Der Grund für dieses ungleiche Verhalten ist gegenwärtig noch unbekannt, eine Gesetzmäßigkeit nach der Stammesverwandtschaft oder nach der vorwiegenden Ernährung der betreffenden Tiere ist nicht erkennbar, da Hund und Rind einerseits, Kaninchen und Mensch auf der anderen Seite mitsammen gehn. Es wäre nicht uninteressant, wenn dieses Verhalten an einem größeren Material nachgeprüft würde.

Diese Befunde waren für die Anordnung unserer Versuche über die Hervorbringung künstlicher Fermente maßgebend; es konnten für die Injektionen nur solche Stoffe gewählt werden, die nicht schon physiologischerweise von dem betreffenden Tierserum aufgespalten werden. Da Abderhalden hauptsächlich mit Hunden gearbeitet hat, schien es uns wünschenswert, auch unsere Versuche an dieser Tierart anzustellen. Zur Immunisierung wählten wir daher Inulin und Gummi arabicum, die von Hundeserum normalerweise nicht angegriffen werden, während für die Kaninchen, mit denen wir ebenfalls einige Versuche ausführten, beliebige Kohlenhydrate verwendbar waren. Wir haben bei diesen Tieren Stärke und Inulin injiziert.

Protokolle.

Versuch 1: Hund C, 11 kg schwerer Dackelbastard.

Erste Blutentnahme 4. X. (Probe I). Beginn der Injektionen am 7. X.: je 1 g chemisch reinen Gummi arabicums[1]) in 10 ccm Wasser gelöst, subcutan. Die Injektionen werden mit gleichen Mengen wiederholt am 8., 9. und 11. Zweite Blutentnahme am 11. X., 2 Stunden nach der vierten Injektion (Probe II). Die Gummi-Injektionen werden fortgesetzt am 12., 13. und 14. Hierauf dritte Blutentnahme am 15. X. (Probe III), 24 Stunden nach der letzten Injektion. Am 18. erhält der Hund 1 g Inulin in 10 ccm Wasser ebenfalls subcutan, die gleiche Dosis hierauf am 19., 20., 21. und 22. Am 23. X. wurde die vierte Blutprobe entnommen. Das Blut wurde jeweils in der Menge von 15 ccm aus der Vena jug. erhalten, nach der Gerinnung zentrifugiert und das Serum in der Menge von 1,0 mit 1,0 der angegebenen Lösungen 20 Stunden bei Zimmertemperatur unter Toluol stehengelassen.

Probe Nr.	Datum	Vorbehandlung	Zusatz zum Serum				
			phys. NaCl	Gummi 2%	Inulin 2%	Glykogen 2%	lösl. Stärke 2%
I	4. X.	—	Glucose 0,5 mg	Glucose 0,5 mg	Glucose 0,5 mg	Glucose 5 mg	Glucose 5 mg
II	11. X.	Gummi 7.—11.	"	"	"	"	"
III	15. X.	Gummi 11.—14.	"	"	"	"	"
IV	23. X.	Inulin 18.—22.	"	"	"	"	"

Die Kontrollen (die betreffenden Kohlenhydratlösungen allein 24 Stunden stehengelassen) ergaben stets Fehlen von Zucker hatten also keine Autolyse erfahren.

Die Versuche zeigen, daß weder nach dem Gummi, noch nach den Inulin-Injektionen das Auftreten besonderer Fermente für diese Stoffe nachweisbar war. Das Hundeserum ließ dagegen, wie wir es auch sonst beim Hund als Regel gefunden haben, ein deutliches Spaltungsvermögen für Glykogen und Stärke, und zwar schon vor aller Behandlung, erkennen.

Versuch 2: 2 Kaninchen von je 2,5 kg erhalten abwechselnd intraperitoneal oder subcutan je 0,5 g das eine (A) von Inulin, das andere (B) von löslicher Reisstärke Die Injektionen wurden bei beiden Tieren täglich vom 16. X. bis zum 22. X., im ganzen 7 mal ausgeführt Am 18. war eine erste Blutprobe untersucht worden. Am 22. X. wurde dann 18 Stunden nach der letzten Injektion eine zweite Blutprobe entnommen (wie auch sonst aus der Ohrvene), der unmittelbar darauf eine 8. intraperitoneale Injektion folgte. $1^1/_2$ Stunden später wurde neuerlich Blut (jeweils 10 ccm) entnommen und beide Proben nebeneinander auf Abwehrfermente untersucht.

[1]) Darstellung s. Bd. **107**, S. 272; das Inulin war dagegen ein schon vor dem Kriege erworbenes Präparat von Kahlbaum, nicht weiter gereinigt.

Tier	Entnahme	Vorbehandlung	Zusatz zum Serum von 1,0			
			phys. NaCl	Inulin 2%	Glykogen 2%	lösl. Stärke 2%
A	8. X.	—	Glucose 0,5 mg	Glucose 0,0 mg	Glucose 0,5 mg	Glucose 0,5 mg
	22. X.	Inulin 16.—21.	„	„	„	„
	22. X.	„ 21.	„	„	„	„
B	8. X.	—	„	Glucose Spuren	„	„
	22. X.	Stärke 16.—21.	„	Glucose 0,5 mg	„	„
	22. X.	„ 21.	„	„	„	„

Der Versuch zeigt, daß auch diese Kaninchen weder vor noch nach der Behandlung imstande waren, Glykogen oder Stärke abzubauen und daß nach der Injektion von Inulin oder Stärke keinerlei spaltende Fermente für diese Kohlenhydrate auftraten. Auch hier haben wir sowohl längere (18 Stunden) wie kurze Zeit ($1^1/_2$ Stunden) nach einer Injektion Blutproben entnommen, so daß der Einwand, daß wir vielleicht zu wenig lange oder zu lange nach der Injektion gewartet haben, auch hier nicht gemacht werden kann.

Ganz analog wurden folgende weitere Versuche angestellt, die wir nur in ihren hauptsächlichen Ergebnissen kurz anführen:

Hund B, Foxterrier, 7 kg. Blutentnahme 26. VII. erhält dann zuerst Inulin (1 g) 8 Tage lang, hierauf Blutuntersuchung, dann Gummi arabicum (1 g) 7 Tage lang. Blutentnahme nach der 3. und 7. Gummi-Injektion. Alle 4 Proben zeigten: deutlichen Abbau von Glykogen und Stärke unter Bildung von je 5—6 mg Glucose aus 20 mg Stärke. Weder vor noch nach den Injektionen irgendeine Wirkung gegenüber Inulin und Gummi.

Hund A, dreimalige Voruntersuchung, ergab stets Fehlen von Abbau gegenüber Inulin und Gummi, dagegen deutliche Aufspaltung von Glykogen und Stärke. Inulininjektionen vom 25. VI. bis 2. VII., Gummi-Injektionen vom 14. bis 21. VII. (täglich 1 g). Auch hier traten keine abbauenden Fermente gegen die injizierten Stoffe auf.

Kaninchen C und D erhalten nach vorheriger Blutuntersuchung 14 Tage lang täglich $^1/_2$ g lösliche Stärke subcutan, mehrmals auch intraperit. Nach 8 Tagen wurde eine erste, nach 14 Tagen eine letzte Blutprobe (aus der Ohrvene, jeweils 24 Stunden nach der letzten Injektion) entnommen. Die Resultate waren ebenso negativ für Abbau der injizierten Stoffe wie beim oben angeführten Versuch.

Alle mitgeteilten Versuche zeigen, daß die Annahme Abderhaldens, daß nach parenteraler Zufuhr höherer Kohlenhydrate Fermente auftreten, welche dieselben in vitro im Verlauf von 18—24 Stunden in Monosaccharide aufspalten, unter den von uns

gewählten Versuchsbedingungen sich nicht bestätigt hat. Selbst eine Überführung der verwendeten Polysaccharide bis zur Maltosestufe, wie sie verschiedene der bekannten Fermente bewirken, ist nicht nachweisbar.

Wäre die Lehre Abderhaldens richtig, so müßte sie sich gerade gegenüber den höheren, für das Blut am meisten fremden Polysacchariden bewahrheiten. Auch haben wir uns genau an die Immunisierungstechnik Abderhaldens gehalten und die Fermente sowohl nach kürzerer wie nach längerer Immunisierung und verschieden lange Zeit nach der letzten Injektion gesucht. Abderhalden hat behauptet, daß schon wenige Stunden nach subcutaner, wenige (15) Minuten nach intravenöser Injektion abbauende Stoffe im Blut nachweisbar sein sollen. Seine Versuche sind zum größten Teil mit Rohr- und Milchzucker gemacht; auf diese mußten wir verzichten, weil diese Zucker schon selbst Osazone bilden, die sich nicht immer genügend von Glucosazon unterscheiden lassen. Diese Abweichung ist aber belanglos, weil Abderhalden seinem Gesetz eine allgemeine Formulierung gegeben hat. Auf dieses Gesetz kommt es uns aber hier an; findet keine Antikörperbildung gegen Stärke und Dextrine statt, so ist das Gesetz in einem Gebiete durchbrochen, wo es sich unbedingt hätte bewähren sollen.

Über Kochsalzresorption im unteren Dünndarm.

Von
Rudolf Cobet.

(Aus der Medizinischen Klinik der Universität Greifswald.)

(Eingegangen am 16. November 1920.)

Durch die grundlegenden Untersuchungen von Heidenhain[1]) und seinen Schülern ist nachgewiesen worden, daß die Resorption von Salzlösungen im Dünndarm nicht lediglich durch die physikalischen Kräfte der Diffusion und Osmose erfolgt, sondern daß dabei noch eine besondere „physiologische Triebkraft" mitwirkt. Über das Wesen dieser „physiologischen Triebkraft" herrscht jedoch noch Unklarheit.

Heidenhain verlegte ihren Sitz in das Epithel der Darmschleimhaut. Er nahm an, daß die „physiologische Triebkraft", sobald sie überhaupt wirksam wird, Wasser und Salze in dem jeweils im Darm vorhandenen Mischungsverhältnisse zur Resorption bringe. Zu dieser physiologischen Leistung sollte sich dann noch gegebenenfalls die Leistung der physikalischen Kräfte der Diffusion und Osmose hinzugesellen. Nun wird aber die Annahme Heidenhains, daß die „physiologische Triebkraft" auf einer besonderen resorbierenden Tätigkeit der Darmepithelien beruhe, keineswegs durch seine Versuchsergebnisse bewiesen, diese lassen sich vielmehr, wie bereits Höber[2]) hervorgehoben hat, auch zwanglos durch die Mitbeteiligung von Filtrationsvorgängen erklären und zwar sind die Bedingungen für das Zustandekommen einer Filtration im Darm in doppelter Weise gegeben, einmal durch den Brückeschen Zottenmechanismus, der wie eine Saug- und Druckpumpe wirkt, und zweitens durch den intraintestinalen Druck, der durch die Zusammenziehung der Darmwandmuskulatur hervorgerufen wird. Mindestens einer dieser beiden Faktoren war in allen früheren Versuchen, die eine aktive Beteiligung der Darmepithelien an der Resorption von Salzlösungen beweisen sollten, mit im Spiele.

Demgegenüber konnte ich in einer im Jahre 1912 unter Kionka im pharmakologischen Institut in Jena durchgeführten Arbeit[3]) zeigen, daß im besonderen Falle auch ohne Mit-

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **56**. 1894.

[2]) Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, 4. Aufl., S. 610. Leipzig und Berlin 1914.

[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. **150**. 1913.

beteiligung von Filtrationskräften und unter Ausschluß von Diffusionsvorgängen eine Aufnahme von Kochsalz aus dem Darm erfolgen kann. Die Filtrationskräfte wurden durch Anwendung hypertonischer Magnesiumsulfatlösungen unwirksam gemacht, die Diffusion dadurch ausgeschaltet, daß die untersuchte Lösung von vornherein eine mit dem Blutserum übereinstimmende Kochsalzkonzentration von 0,6% erhielt. Füllte ich eine so zusammengesetzte Lösung in eine Darmschlinge ein, so fand ich nach einer halben Stunde die Flüssigkeitsmenge vermehrt, die absolute Kochsalzmenge aber hatte in den unteren Darmschlingen deutlich abgenommen, es war also Kochsalz ohne gleichzeitige Flüssigkeitsaufnahme und gegen ein Diffusionsgefälle aus dem Darm resorbiert worden. Die Verminderung der absoluten Kochsalzmenge fand sich allerdings nur in den unteren Darmschlingen, im oberen Dünndarm war unter sonst gleichen Bedingungen die absolute Kochsalzmenge vermehrt, und zwar stand hier die Zunahme des Kochsalzes in einem bestimmten Verhältnis zu der Menge der hinzugekommenen Flüssigkeit. Rechnete man aus der zugewanderten Kochsalzmenge und der Menge der hinzugekommenen Flüssigkeit deren Prozentgehalt an NaCl aus, so ergaben sich Werte um 0,5—0,6%. Das war der Fall bei Versuchen, bei denen die eingefüllte Lösung von vornherein 0,6% Kochsalz enthielt, fand sich aber auch, was für die Beurteilung wichtiger ist, wenn reine Magnesiumsulfatlösungen angewandt worden waren.

Aus diesem Verhalten läßt sich der Schluß ziehen, daß — in den oberen Darmschlingen wenigstens — die Vermehrung der Flüssigkeitsmenge in der Hauptsache durch hinzugekommenen Darmsaft bedingt ist, denn dieser hat eine entsprechende Kochsalzkonzentration. Sie beträgt nach Gumilewski[1]) beim Hund um 0,5%, beim Menschen nach Hamburger und Hekma[2]) 0,58%.

Die Sulfatlösungen bewirken also im Darm eine erhebliche Steigerung der Darmsaftsekretion, Diffusion und Osmose, spielen daher höchstens eine untergeordnete Rolle.

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **39**. 1886.

[2]) Zit. nach Cohnheim, Nagels Handbuch der Physiol. des Menschen, Braunschweig 1907, Bd. II, S. 592.

Das bestätigt zunächst die Lehre Cohnheims[1]), daß die Darmwand befähigt sei, das Hineindiffundieren von Blutsalzen in den Darminhalt zu verhindern.

Cohnheim konnte nachweisen, daß in eine im Darm befindliche Traubenzuckerlösung bei gesunder Darmschleimhaut nur Spuren von Kochsalz übertreten, während in der Peritonealhöhle oder im Darm mit vergifteter Schleimhaut der Kochsalzgehalt in derselben Lösung sich mit der Zeit der Blutserumkonzentration näherte. Cohnheim schließt aus diesen Versuchen auf eine einseitige Durchlässigkeit der Darmwand für Kochsalz; er verlegt die Fähigkeit, den Diffusionsstrom aus dem Blute zu hemmen, in das Capillarendothel.

Nach Höber[2]) ist diese Schlußfolgerung Cohnheims nicht zwingend; die Erscheinungen lassen sich auch so erklären, daß durch den Flüssigkeitsstrom, den die filtrierende Triebkraft in der Darmwand gegen das Gewebe hin erzeugt, die entgegengesetzte Diffusion der Blutbestandteile, insbesondere des Kochsalzes, hintangehalten wird. Dafür spricht nach Höber die auch schon von Cohnheim selbst gefundene Tatsache, daß in hypertonische Sulfatlösungen, bei denen „die osmotische Triebkraft vom Gewebe zum Darmlumen die entgegengesetzte celluläre filtrierende Triebkraft überkompensiert", neben Flüssigkeit nun auch Kochsalz in erheblichen Mengen übertritt. Auch diese bei hypertonischen Sulfatlösungen beobachteten Erscheinungen lassen sich jedoch nach meinen Versuchen in der oben angegebenen Weise zwanglos im Sinne Cohnheims deuten. In konzentrierten Sulfatlösungen ist zwar nach längerem Aufenthalt im Dünndarm infolge gesteigerter Darmsaftsekretion der prozentuale Kochsalzgehalt wesentlich höher, als er beispielsweise von Cohnheim in hypotonischen Traubenzuckerlösungen gefunden wurde, niemals aber erreicht er annähernd die Blutserumkonzentration. Nur wenn die eingeführte Sulfatlösung von vornherein 0,6% NaCl enthält, ist das im oberen Dünndarm möglich, weil Blutserum und Darmsaft etwa gleichen Kochsalzgehalt aufweisen. (In den unteren Darmschlingen werden durch die aktive Kochsalzresorption die Verhältnisse verwickelter.)

In Erweiterung der Cohnheimschen Anschauungen muß man nach meinen Versuchen der Darmwand ferner noch die Fähigkeit zuschreiben, einen osmotischen Wassereinstrom in den Darm zu hemmen. Bei Einführung hypertonischer Lösungen vermehrt sich zwar die Flüssigkeitsmenge, doch geht bei verschiedenen Versuchen die Zunahme keineswegs der Gesamtkonzentration der eingeführten Lösung parallel. Auch das gegenseitige Verhältnis zwischen der Menge des zugewanderten Kochsalzes und der hinzugekommenen Flüssigkeit ist nicht so, wie man es nach

[1]) Zeitschr. f. Biol. **36**. 1897 und **37**. 1898.

[2]) a. a. O. S. 611.

den Gesetzen der Osmose und Diffusion erwarten müßte, da bei ansteigender Gesamtkonzentration der eingefüllten Lösung der prozentuale Kochsalzgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit nicht entsprechend absinkt. Das gilt in gleicher Weise für obere und untere Dünndarmschlingen.

Die Ergebnisse meiner früheren Arbeit stützen sich nur auf eine verhältnismäßig kleine Zahl von Versuchen (19), ich war daher schon immer bestrebt, sie fortzusetzen und womöglich zu erweitern, doch bin ich aus äußeren Gründen erst jetzt dazu gekommen.

Zunächst wurden die Versuche mit der früheren Versuchsanordnung wiederholt, d. h. es wurden an tief narkotisierten Hunden die zu untersuchenden Lösungen in abgebundene Darmschlingen eingefüllt, diese wurden zunächst $^1/_2$ Stunde in die Bauchhöhle zurückgebracht, dann herausgeschnitten und zur Untersuchung ihres Inhaltes entleert.

Versuch 1: Männlicher Hund, 15 kg Gewicht. 24 Stunden Hunger. Tiefe Narkose mit Morphium (0,1 g) und Äther. Eingefüllt oben und unten je 50 ccm einer Lösung von 12% ($MgSO_4 + 7\ H_2O$) + 0,6% NaCl. Δ dieser Lösung = −1,36°. Resorptionsdauer $^1/_2$ Stunde. Länge der Darmschlinge: oben 54 cm, unten 62 cm. Zurückerhalten: oben 100 ccm (dabei Bandwürmer), nach Abzug der groben Verunreinigungen 90 ccm, Δ = −0,72°, unten 85 ccm (mit Bandwurm), nach Abzug der groben Verunreinigungen 78 ccm, Δ = −0,65°.

oben:		unten:	
SO_4-Ionen		SO_4-Ionen	
Eingeführt	2,34 g	Eingeführt	2,34 g
Zurückerhalten	2,24 „	Zurückerhalten	2,19 „
Resorbiert	0,10 g	Resorbiert	0,15 g
= 4,0%.		= 6,5%.	
NaCl		NaCl	
Eingeführt	0,30 g	Eingeführt	0,30 g
Zurückerhalten	0,51 „	Zurückerhalten	0,14 „
Hinzugekommen	0,21 g	Resorbiert	0,16 g
Prozentgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit an NaCl: 0,57%.		Prozentgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit an NaCl: 0,18%.	
Eiweißgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit: 0,48 g.		Eiweißgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit: 0,32 g.	
Hinzugekommene Flüssigkeit: 40 ccm.		Hinzugekommene Flüssigkeit: 28 ccm.	
Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit: an NaCl: 0,52% an Eiweiß: 1,2%.		Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit: an NaCl: — an Eiweiß: 1,1%.	

Das am Schluß des Versuchs gewonnene Blutserum des Hundes enthielt 0,636 Gewichtsprozent NaCl (bestimmt nach der Bangschen Mikromethode). Das spezifische Gewicht des Serums betrug 1,027. Demnach Prozentgehalt des Serums an NaCl: 0,65%. Eingeführte Lösung 4 Tage lang gegen gleiche Teile des Blutserums dialysiert. Kochsalzgehalt der Sulfatlösung am Schluß der Dialyse: 0,62%.

Versuch 2: Männlicher Hund, $3^1/_2$ kg Gewicht. Sehr altes, kränkliches Tier. 24 Stunden Hunger. Morphium 0,1 g bei Beginn der Äthernarkose Asphyxie, die durch künstliche Atmung schnell beseitigt wurde. Weiter kein Äther, daher keine tiefe Narkose. Eingefüllt oben 18 ccm (unter Druck), unten 50 ccm einer Lösung von 12% ($MgSO_4 + 7\ H_2O$) + 0,6% NaCl.

Δ dieser Lösung = $-1{,}36°$. Resorptionsdauer $^1/_2$ Stunde. Länge der Darmschlinge: oben 48 cm, unten 84 cm. Zurückerhalten: oben 34 ccm mit reichlich Schleim, nach Abzug der groben Verunreinigungen 32 ccm, $\Delta = -0{,}85°$; unten: 67 ccm mit reichlich Schleim und Kotresten, nach Abzug der groben Verunreinigungen 62 ccm, $\Delta = -1{,}00°$.

oben:		unten:	
SO_4-Ionen		SO_4-Ionen	
Eingeführt	0,84 g	Eingeführt	2,34 g
Zurückerhalten	0,82 „	Zurückerhalten	2,20 „
Resorbiert	0,02 g	Resorbiert	0,14 g
= 2,4%.		= 6,0%.	
NaCl		NaCl	
Eingeführt	0,11 g	Eingeführt	0,30 g
Zurückerhalten	0,19 „	Zurückerhalten	0,28 „
Hinzugekommen	0,08 g	Resorbiert	0,02 g
Prozentgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit an NaCl: 0,59%.		Prozentgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit an NaCl: 0,45%.	
Eiweißgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit: 0,26 g.		Eiweißgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit: 0,44 g.	
Hinzugekommene Flüssigkeit: 14 ccm.		Hinzugekommene Flüssigkeit: 12 ccm.	
Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit:		Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit:	
an NaCl: 0,58%		an NaCl: —	
an Eiweiß: 2,6%.		an Eiweiß: 1,4%.	

Das am Schluß des Versuchs gewonnene Blutserum des Hundes enthielt 0,60 Gewichtsprozent NaCl (bestimmt nach der Bangschen Mikromethode). Wenn das spezifische Gewicht des Serums zu 1,027 angenommen wird, beträgt der Prozentgehalt des Serums an NaCl 0,62%.

Eingeführte Lösung 4 Tage lang gegen gleiche Teile des Blutserums dialysiert. Kochsalzgehalt der Sulfatlösung am Schluß der Dialyse: 0,60%.

Wir sehen, daß sich ebenso wie bei den früheren Versuchen in den oberen Darmschlingen die Flüssigkeitsmenge und auch die

absolute Kochsalzmenge vermehrt haben, und zwar derart, daß der Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit an NaCl mit dem des Darmsaftes übereinstimmt. Er beträgt bei Versuch 1:0,52%, bei Versuch 2:0,58%.

In den unteren Schlingen hat sich die Flüssigkeitsmenge gleichfalls erheblich vermehrt, die absolute Kochsalzmenge aber hat in beiden Versuchen abgenommen. In Versuch 1 ist mehr als die Hälfte des Kochsalzes aus dem Darm verschwunden, in Versuch 2 ist die Verminderung des NaCl allerdings gering (nur 0,02 g). Worauf das beruht, soll später erörtert werden (S. 45).

Die Ergebnisse dieser Versuche unterliegen den in der früheren Arbeit ausführlich besprochenen Fehlerquellen; die Salzbestimmungen sind genau, da die Darmschlingen ausgespült wurden, die Flüssigkeitsbestimmungen aber sind nicht ganz einwandfrei, da die der Schleimhaut nach der Entleerung noch anhaftende Flüssigkeit vernachlässigt, andererseits aber feinere Verunreinigungen mit gemessen wurden.

Am Schluß der Versuche habe ich noch, um ein Diffusionsgefälle von Darmlumen zum Blute sicher auszuschließen, den Kochsalzgehalt des Blutserums der Hunde bestimmt, er betrug bei Versuch 1 0,65%, bei Versuch 2 0,62%, war also höher als der der eingefüllten Lösung. Daß die Chlorionen im Blutserum insgesamt in frei diffusibler Form vorhanden sind, ist bereits von Heidenhain[1]) durch Diffusionsversuche wahrscheinlich gemacht, von Rona[2]) später durch Kompensationsdialyse einwandfrei bewiesen worden. Bei von mir selbst angestellten Kompensationsdialysen zwischen den eingefüllten Magnesiumsulfat-Kochsalzlösungen einerseits und dem Blutserum der Hunde andererseits trat dann auch keine Verminderung des Kochsalzprozentgehaltes der Sulfatlösungen ein. Eine Kochsalzresorption durch Diffusionskräfte war also in unseren Versuchen ausgeschlossen.

Ebensowenig kann es sich um die Wirkung von Filtrationskräften handeln, da diese einen gleichsinnigen Transport von Flüssigkeit und Salz hervorrufen würden, während in meinen Versuchen beide Stoffe in entgegengesetzter Richtung gewandert sind.

[1]) a. a. O.

[2]) Diese Zeitschr. **29**. 1910.

Die weiteren Versuche wurden an einem Fistelhunde angestellt. Das hatte den Vorteil, daß immer unter gleichen Bedingungen gearbeitet werden konnte. Herr Prof. O. Kestner in Hamburg riet zur Anlegung einer Vellafistel und gab für ihre Ausführung wertvolle Winke. Die Operation wurde von Herrn Prof. v. Tappeiner von der hiesigen chirurgischen Klinik ausgeführt. Beiden Herren möchte ich auch an dieser Stelle für ihre freundliche Unterstützung meinen Dank aussprechen. Auch den Herren Dr. Meyer und Dr. Handtmann, die mir bei der Ausführung der Versuche geholfen haben, schulde ich Dank.

Für die Operation wurde ein männlicher Hund von 18 kg Gewicht ausgewählt. Die ausgeschaltete Schlinge gehörte dem untersten Dünndarm an, ihre Länge betrug etwa 70 cm, das untere Ende war knapp handbreit von der Ileocoecalklappe entfernt.

Die Wunden heilten ohne Störungen. Das Befinden des Hundes war dauernd gut. 2 Wochen nach der Operation begannen die Versuche. Diese wurden gewöhnlich am späten Vormittag angestellt. Der Hund war dabei in der Regel nüchtern, nur in der ersten Zeit hatte er gelegentlich vorher schon etwas zu fressen bekommen. Die Versuche waren meist durch einen oder mehrere versuchsfreie Tage getrennt, seltener wurden sie an aufeinanderfolgenden Tagen angestellt. Während des Versuches befand sich der Hund in Seitenlage.

Die zu untersuchenden Lösungen wurden körperwarm eingefüllt. Dementsprechend waren auch ihre Salzkonzentrationen auf Körperwärme eingestellt worden. Die Richtigkeit des angegebenen Salzgehaltes wurde durch Analyse nachgeprüft. Der Verschluß der Fistelöffnungen wurde durch Gummiballons bewerkstelligt, die nach bekannten Grundsätzen selbst angefertigt worden waren.

Im zurückerhaltenen Darminhalt wurden die Cl-Ionen titrimetrisch nach Volhard-Arnold bestimmt und die gefundenen Werte auf NaCl umgerechnet. Da in neuerer Zeit namentlich von Rosemann[1]) auf erhebliche Fehlerquellen der Chloridbestimmungsmethoden aufmerksam gemacht worden ist, sei besonders hervorgehoben, daß bei der Veraschung schon vor dem Eindampfen reichlich Soda zugesetzt wurde, wodurch nach Behaghel von Adlerskron[2]) ein Verlust an Chlorid sicher vermieden wird. Häufig wurden die Bestimmungen auch ohne vorherige Veraschung unmittelbar am filtrierten Darminhalt angestellt, was nach Arnold[3]) ebenfalls genaue Werte gibt. Analysen mit und ohne Veraschung, die oft nebeneinander gemacht wurden, zeigten denn auch eine sehr gute Übereinstimmung.

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **135**. 1910.
[2]) Zeitschr. f. analyt. Chemie **12**. 1873.
[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. **35**. 1884.

Das Sulfat wurde stets unmittelbar am filtrierten Darminhalt ohne vorherige Veraschung bestimmt, und zwar gewichtsanalytisch als Bariumsulfat.

Bis auf einige wenige Fälle, wo es aus Materialmangel nicht möglich war, wurden immer Doppelbestimmungen gemacht und die Mittelwerte gut übereinstimmender Analysen in Rechnung gestellt. Die gefundenen Zahlen wurden in den Protokollen und Tabellen bis auf die zweite Stelle nach dem Komma gekürzt.

Schwierigkeiten machte bei dieser Versuchsanordnung zunächst die genaue Bestimmung der am Schluß des Versuches in der Schlinge befindlichen Flüssigkeitsmenge. Diese läßt sich durch einfaches Ausblasen nicht quantitativ gewinnen, ein Teil bleibt immer an der Schleimhaut haften. Für die zurückbleibende Menge jedesmal einen bestimmten Wert in Anrechnung zu bringen, war nicht angängig. Wie ich mich durch Vorversuche überzeugen konnte und auch später durch die Versuche bestätigt wurde, ist die nach Ausblasen noch in der Schlinge befindliche Flüssigkeitsmenge sehr wechselnd, in manchen Fällen ist sie recht beträchtlich, so daß sie auch nicht vernachlässigt werden kann.

Die zurückbleibende Flüssigkeit mußte daher indirekt bestimmt werden. Am Schluß des Versuches wurde die Menge, die durch Ausblasen zu gewinnen war, genau gemessen und dann die Schlinge mit einer indifferenten Lösung gründlich nachgespült. Auch die Spülflüssigkeit wurde quantitativ aufgefangen. Aus dem Mengenverhältnis, in dem eine bestimmte Substanz, nämlich die Sulfationen, in beiden Flüssigkeiten gefunden wurde, ließ sich dann der im Darm nach dem Ausblasen zurückgebliebene Rest an Flüssigkeit ermitteln. Voraussetzung ist dabei, daß am Schluß des Versuches der Darminhalt überall die gleiche Zusammensetzung hat und daß die für die Berechnung gewählte Substanz während der Dauer der Spülung in ihrer absoluten Menge keine Änderung erfährt.

In dieser Hinsicht sind gerade die SO_4-Ionen für unsere Zwecke sehr geeignet, da sie im Darm sehr schwer resorbiert werden. Bei den Versuchen wurde in beiden Flüssigkeitsmengen zusammen die eingeführte Sulfatmenge nahezu quantitativ wiedergefunden, die Resorption betrug höchstens einige wenige Prozente. Nur in einem einzeigen aus der Reihe herausfallenden Versuche (3) machte der Sulfatverlust 14,5% aus. Eine nennenswerte Beeinflussung der noch im Darm befindlichen Sulfatmenge während

der Spülung ist also nicht zu befürchten. Die Forderung nach einer gleichmäßigen Mischung des Darminhaltes am Schluß des Versuches darf wohl gleichfalls als erfüllt angesehen werden.

Störend könnte sich dabei höchstens der etwa 2 ccm betragende tote Raum der Einfüllvorrichtung bemerkbar machen. Ich suchte ihn durch Nachblasen von etwas Luft unschädlich zu machen, was freilich nicht immer in der gewünschten Weise gelang, namentlich nicht bei Einführung einer größeren Menge (50 ccm) der Lösung. Aber auch dann ist, wie sich leicht berechnen läßt, der Fehler so gering, daß er vernachlässigt werden kann.

Die zurückerhaltene Flüssigkeit enthielt regelmäßig etwas Schleim, gelegentlich bis 2 ccm, meist in Form eines eitrigen Fadens. Er wurde absitzen gelassen und bei der Volumenbestimmung in Abzug gebracht. Als Spülflüssigkeit diente bei den beiden ersten Versuchen destilliertes Wasser. Da dieses jedoch möglicherweise die Darmwand schädigt, wurde später eine 1,5 proz. Harnstofflösung ($\Delta = -0{,}52°$) benutzt. Gespült wurde so lange, bis sich in einer kleinen Probe kein Sulfat mehr nachweisen ließ. Dazu wurden gewöhnlich 600—800 ccm Spülflüssigkeit gebraucht.

Durch das beschriebene indirekte Verfahren wurden für die nach dem Ausblasen im Darm zurückgebliebene Restmenge an Flüssigkeit Werte gefunden, die zwischen 4 und 22 ccm schwankten (Versuch 27 und Versuch 14), meist aber zwischen 7 und 15 ccm lagen.

Auch die Restmenge an Kochsalz wurde in derselben Weise indirekt ermittelt, außerdem wurde aber der Kochsalzgehalt der Spülflüssigkeit meist auch direkt durch Analyse bestimmt. Die gefundenen Werte stimmten nicht überein. Regelmäßig war der tatsächliche Kochsalzgehalt der Spülflüssigkeit höher als der nach der Berechnung erwartete. Die Unterschiede betrugen meist 0,02—0,03 g, höchstens 0,05 g (vgl. Tab. I und II). Dieser Mehrgehalt der Spülflüssigkeit an NaCl erklärt sich leicht durch eine Kochsalzabsonderung der Darmwand während der Spülung, die ja immerhin mehrere Minuten in Anspruch nahm. Als ich an versuchsfreien Tagen die Darmschlinge in derselben Weise, wie sonst am Schluß der Versuche, mit der üblichen Menge Harnstofflösung spülte (5 Min. lang), fand ich in der Spülflüssigkeit in einem Falle 0,04 g, im anderen Falle 0,02 g NaCl. Daraus ergibt sich, daß die durch indirekte Bestimmung für die Restmenge an Kochsalz ermittelten Werte richtig sind, immerhin sind in den Tabellen auch die durch Analyse der Spülflüssigkeit gewonnenen Zahlen mitberücksichtigt.

Die Versuche am Fistelhund sind der zeitlichen Reihenfolge nach numeriert. Die Wiedergabe aller Protokolle verbietet sich aus Raummangel. Nur 2 Beispiele seien angeführt.

Versuch 21: 25. VII. Tiefe Narkose mit 0,08 g Morphium und Äther. Eingefüllt 50 ccm einer Lösung von 12% ($MgSO_4 + 7\ H_2O$) + 0,6% NaCl. ($\Delta = -1{,}36°$). Dauer $^1/_2$ Stunde. Zurückerhalten 55 ccm ohne nennenswerten Schleim ($\Delta = -0{,}83°$).

Darin 1,73 g SO_4-Ionen, 0,14 g NaCl, 0,05 g Eiweiß.

Durchgespült mit Harnstofflösung bis Sulfatfreiheit.

Spülflüssigkeit 800 ccm.

Darin 0,56 g SO_4-Ionen, 0,09 g NaCl.

Gesamtinhalt der Darmschlinge am Schluß des Versuches:

an Flüssigkeit: 55 + 18 = 73 ccm, also hinzugekommen 23 ccm,
an SO_4-Ionen: 1,73 + 0,56 = 2,29 g, also resorbiert 0,05 g = 2,2%,
an NaCl: 0,14 + 0,04 = 0,18 g, also resorbiert 0,12 g,
an Eiweiß: 0,05 + 0,02 = 0,07 g.

Prozentgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit an NaCl: 0,25%.

Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit an Eiweiß: 0,30%.

Kochsalzgehalt des Blutserums während des Versuches = 0,59 Gewichtsprozent = 0,61 Volumprozent.

Versuch 28: 11. VIII. Eingefüllt 25 ccm einer Lösung von 3,3% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl ($\Delta = -1{,}33°$). Dauer 5 Min. Schlußdruck 25 mm Hg. Zurückerhalten 27 ccm mit etwa 1 ccm Schleim ($\Delta = -1{,}02°$).

Darin 0,42 g SO_4-Ionen, 0,14 g NaCl, 0,031 g Na_2CO_3, 0,05 g Eiweiß.

Durchgespült mit Harnstofflösung bis Sulfatfreiheit.

Spülflüssigkeit 720 ccm.

Darin 0,13 g SO_4-Ionen, 0,06 g NaCl.

Gesamtinhalt der Darmschlinge am Schluß des Versuches:

an Flüssigkeit: 26 + $7^1/_2$ = $33^1/_2$ ccm, also hinzugekommen $8^1/_2$ ccm,
an SO_4-Ionen: 0,42 + 0,13 = 0,55 g, also resorbiert 0,01 g = 1,8%,
an NaCl: 0,14 + 0,04 = 0,18 g, also hinzugekommen 0,03 g,
an Na_2CO_3: 0,031 + 0,009 = 0,040 g,
an Eiweiß: 0,05 + 0,01 = 0,06 g.

Prozentgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit an NaCl: 0,54%.

Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit an Na_2CO_3: 0,45%,
an Eiweiß: 0,69%.

Die ersten Versuche am Fistelhund, bei denen 25 ccm hypertonischer Sulfatlösung mit 0,58 oder 0,6% NaCl eingeführt worden waren, brachten zunächst eine Enttäuschung. Die absolute Kochsalzmenge hatte dabei während der Verweildauer der Lösungen im Darm, nicht, wie es erwartet wurde, in jedem Falle einwandfrei abgenommen. Nur bei einigen wenigen Versuchen war das in geringem Grade der Fall, oder die Kochsalzmenge war wenigstens gleich geblieben, entschieden häufiger war sie deutlich vermehrt

(Tab. I). Auch spätere Versuche mit derselben Versuchsanordnung hatten ein ähnliches Ergebnis. Der Prozentgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit an NaCl war allerdings in allen Versuchen beträchtlich niedriger als der des Blutserums geworden, es hatte sich also während der Versuchsdauer ein Diffusionsgefälle für Kochsalz vom Blut zum Darminhalt ausgebildet (Tab. I).

Diese Versuchsergebnisse sind zwar, wie sich zeigen wird, mit den früher gewonnenen Anschauungen vereinbar, sind aber zunächst nicht geeignet, ihre Richtigkeit zu beweisen. Der Kochsalzgehalt der hypertonischen Sulfatlösungen unterliegt, wie früher auseinandergesetzt wurde, im unteren Dünndarm zwei entgegengesetzt gerichteten Einflüssen. Er wird einerseits durch Darmsaftsekretion vermehrt, andererseits durch den aktiven Kochsalztransport vom Darmlumen ins Blut vermindert. Bei den früheren Versuchen überwog der letztere, so daß auch die absolute Menge an NaCl abnahm. Verschieben sich aber aus irgendeinem Grunde die gegenseitigen quantitativen Verhältnisse zugunsten der Sekretion, so kann es auch zu einer Vermehrung des Kochsalzes kommen, ohne daß man dafür ein grundsätzlich andersartiges Verhalten der Darmschleimhaut verantwortlich machen müßte. Gerade die Tatsache, daß bei den in Tab. I aufgeführten Versuchen gelegentlich doch eine geringe Kochsalzverminderung festgestellt werden konnte, spricht für diese Auffassung und gegen andere Erklärungsmöglichkeiten. Es galt, weitere Beweismittel zu erbringen.

Vor allem war es wichtig, die Umstände herauszufinden, die für die Unterschiede gegenüber den früheren Versuchsergebnissen von maßgebender Bedeutung waren. Zunächst war daran zu denken, daß die Darmschlinge der Vellafistel sich wegen der dauernden Ausschaltung aus ihrer normalen Tätigkeit anders verhalte als die abgebundenen Schlingen in den früheren Versuchen. In der Tat wird angegeben, daß bei Vellafisteln die Sekretion gesteigert, die Resorption in geringem Grade vermindert sei (vgl. Nagano[1])]. Danach würden also Verhältnisse vorliegen, wie sie zur Erklärung der Versuchsergebnisse am Fistelhund gefordert werden mußten. Außerdem aber bestehen gegenüber den früheren Versuchsbedingungen noch in anderer Hinsicht Abweichungen, die die beobachteten Unterschiede verursacht

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **90**. 1902.

Tabelle I.

Änderung der absoluten Kochsalzmenge bei Einführung von je 25 ccm ohne Narkose.

(+ = hinzugekommen; − = resorbiert).

Nummer des Versuches	Zusammensetzung der eingeführten Lösung	Δ der eingeführten Lösung	Dauer des Versuches	Art der Narkose	Gesamtmenge der zurückerhaltenen Flüssigkeit in ccm	Δ der zurückerhaltenen Flüssigkeit	Proz.-Gehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit an NaCl	Änderung der absoluten Kochsalzmenge unter Zugrundelegung der für Spülflüssigkeit: indirekt ermittelten Menge g NaCl	Änderung der absoluten Kochsalzmenge unter Zugrundelegung der für Spülflüssigkeit: direkt bestimmten Menge g NaCl	Differenz	Resorbierte Kochsalzmenge unter Berücksichtigung des in den Darm sezernierten NaCl g
3	3,64% Na_2SO_4 + 0,58% NaCl	−1,35°	10 Min.	keine	41	−0,69°	0,32	−0,02	±0,00	0,02*)	0,11
32	2,2% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,01°	5 „	„	33½	−0,81°	0,48	+0,01	+0,02	0,01	0,04
33	„	−1,01°	10 „	„	38	−0,73°	0,42	+0,01	+0,04	0,03	0,06
31	„	−1,01°	15 „	„	48	−0,72°	0,44	+0,06	+0,11	0,05	0,07
34	„	−1,01°	20 „	„	42	−0,65°	0,35	±0,00	+0,02	0,02	0,09
28	3,3% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,33°	5 „	„	33½	−1,02°	0,54	+0,03	+0,05	0,02	0,02
25	„	−1,33°	10 „	„	45½	−0,91°	0,46	+0,06	+0,09	0,03	0,05
30	„	−1,33°	15 „	„	48½	−0,86°	0,41	+0,06	—	—	0,07
26	„	−1,33°	20 „	„	50	−0,80°	0,39	+0,04	+0,07	0,03	0,10
13	8% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,05°	10 „	„	38	−0,70°	0,40	±0,00	+0,03	0,03	0,07
19	„	−1,05°	10 „	„	41½	−0,74°	0,45	+0,04	+0,06	0,02	0,06
17	10% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,20°	10 „	„	35½	−0,81°	0,43	±0,00	+0,01	0,01	0,06
22	„	−1,20°	10 „	„	39½	−0,80°	0,39	±0,00	+0,02	0,02	0,08
23	„	−1,20°	10 „	„	34½	−0,93°	0,48	+0,01	+0,03	0,02	0,04
6	12% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,36°	10 „	„	45	−0,80°	0,29	−0,02	—	—	0,13
7	„	−1,36°	10 „	„	45	−0,80°	0,29	−0,02	—	—	0,13
9	„	−1,36°	10 „	„	41	−0,86°	0,46	+0,04	+0,06	0,02	0,05
12	„	−1,36°	10 „	„	42	−0,86°	0,40	+0,02	+0,05	0,03	0,07
11	„	−1,36°	15 „	„	52½	−0,79°	0,40	+0,07	+0,08	0,01	0,08
16	14% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,51°	10 „	„	44½	−0,99°	0,47	+0,06	+0,09	0,03	0,05
20	„	−1,51°	10 „	„	40	−1,10°	0,47	+0,03	+0,06	0,03	0,05

*) Dest. Wasser als Spülflüssigkeit.

haben könnten. Bei den früheren Versuchen war die doppelte Flüssigkeitsmenge $^1/_2$ Stunde lang in den Darmschlingen belassen worden (beim Fistelhund hatte das Schwierigkeiten gemacht, da das Tier offenbar wegen Beschwerden unruhig wurde), außerdem hatten die Hunde bei den früheren Versuchen in tiefer Morphium-Äthernarkose gelegen.

Wurden die Versuchsbedingungen genau so gewählt wie früher, so kam ich auch beim Fistelhund zu denselben Ergebnissen, und zwar ließ sich durch mehrfache Veränderungen der Versuchsanordnung zeigen, daß dabei die tiefe Morphium-Äthernarkose der ausschlaggebende Faktor war (Tab. II). Wurden bei Morphium-Äthernarkose in die Schlinge der Vellafistel hypertonische Sulfatlösungen mit 0,6% NaCl eingefüllt, so fand ich nach $^1/_2$ Stde. die absolute Kochsalzmenge um etwa $^1/_3$ vermindert, während sich die Flüssigkeitsmenge gleichzeitig vermehrt hatte. Die gefundenen Ausschläge sind so groß, daß sie auch noch deutlich werden, wenn man nur die durch direkte Bestimmungen gefundenen Zahlen zugrunde legt, die für die Restmengen im Darm indirekt ermittelten Werte, die zwar sicher richtig, immerhin aber an gewisse Voraussetzungen gebunden sind, dagegen unberücksichtigt läßt. Schon durch einfaches Ausblasen wurde mehr Flüssigkeit aus den Darmschlingen zurückerhalten, als eingefüllt worden war; die absolute Kochsalzmenge, die in dieser unmittelbar zurückerhaltenen Flüssigkeit und in der Spülflüssigkeit zusammen durch Analyse direkt festgestellt werden konnte, blieb dagegen hinter der eingeführten nachweisbar zurück. Das war übrigens, wie Versuch 36 zeigte, auch dann der Fall, wenn die eingeführte Sulfatlösung nur 0,5% NaCl enthielt.

Auch in den Werten für die Gefrierpunktserniedrigung und für den Kochsalzprozentgehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit trat der Einfluß der tiefen Morphium-Äthernarkose deutlich hervor (Tab. II).

Es fragt sich, wie der Einfluß der Narkose bei diesen Versuchen zu erklären ist? Zunächst dachte ich an eine Morphiumwirkung, da dieses die Sekretion von Darmsaft herabsetzen soll [vgl. Meyer und Gottlieb[1])]. Eine Verminderung der hinzugekommenen Flüssigkeitsmenge durch Morphium ließ sich allerdings keineswegs in allen Fällen deutlich erkennen. Morphium allein

[1]) Exper. Pharm. 2. Aufl., S. 175. Berlin und Wien 1911.

Tabelle II.

Einfluß der Narkose auf die Änderung der absoluten Kochsalzmenge. Einführung von je 50 ccm Lösung. (+ = hinzugekommen; − = resorbiert).

Nummer des Versuches	Zusammensetzung der eingeführten Lösung	Δ der eingeführten Lösung	Dauer des Versuches	Art der Narkose	Gesamtmenge d. zurückerhaltenen Flüssigkeit ccm	Δ der zurückerhaltenen Flüssigkeit	Proz.-Gehalt der zurückerhaltenen Flüssigkeit an NaCl	Änderung der absoluten Kochsalzmenge unter Zugrundelegung der für Spülflüssigkeit: indirekt ermittelten Menge g NaCl	Änderung der absoluten Kochsalzmenge unter Zugrundelegung der für Spülflüssigkeit: direkt bestimmt. Menge g NaCl	Differenz	Resorbierte Kochsalzmenge unter Berücksichtigung des in den Darm sezernierten NaCl g
4	3,64% Na_2SO_4 + 0,58% NaCl	−1,35°	10 Min.	keine	71½	−1,00°	0,47	+0,05	+0,10	0,05*)	0,07
27	3,3% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,33°	10 „	Morph. 0,08 + Äther	59	−1,01°	0,40	−0,06	−0,04	0,02	0,11
24	„	−1,33°	½ Std.	„	58	−0,93°	0,44	−0,09	−0,04	0,05	0,13
35	„	−1,33°	½ „	nur Morphium 0,08	60	−1,00°	0,51	+0,01	+0,04	0,03	0,05
10	12% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,36°	10 Min.	keine	66	−1,07°	0,46	±0,00	+0,02	0,02	0,09
29	„	−1,36°	10 „	Morph. 0,08 + Äther	62	−1,04°	0,42	−0,04	−0,01	0,03	0,11
15	„	−1,36°	½ „	„	76½	−0,83°	0,24	−0,12	−0,08	0,04	0,27
18	„	−1,36°	½ „	„	68½	−0,86°	0,28	−0,11	−0,08	0,03	0,21
21	„	−1,36°	½ „	„	73	−0,83°	0,25	−0,12	−0,07	0,05	0,25
14	„	−1,36°	½ „	nur Äther	77	−1,00°	0,42	−0,01	—	—	0,16

*) Dest. Wasser als Spülflüssigkeit.

hat auch offenbar den beobachteten Einfluß nicht (Versuch 35, Tab. II und ein in den Tabellen nicht aufgeführter Ergänzungsversuch 37), ebensowenig allerdings eine Äthernarkose ohne vorherige Morphiumgabe (Versuch 14, Tab. II). Nur bei Verbindung der Morphinwirkung mit tiefer Äthernarkose bekommt man deutliche Ausschläge. Es wäre möglich, daß zu der Hemmung der Sekretion durch das Morphium noch eine Begünstigung des aktiven Kochsalztransportes aus dem Darmlumen ins Blut hinzukommen muß, um ein Überwiegen des letzteren und damit eine Verminderung der absoluten Kochsalzmenge im Darm hervorzurufen. Wenn man nämlich unter der Voraussetzung, daß die hinzugekommene Flüssigkeit aus Darmsaft besteht und mit diesem zunächst 0,55% NaCl in den Darm gelangt sind, die wahrscheinliche Gesamtgröße der Kochsalzresorption berechnet (letzte Spalte der Tab. II. Vgl. dazu S. 41), so findet man in der Tat bei tiefer Morphium-Äthernarkose auch höhere Resorptionszahlen. Vielleicht spielt dabei eine Erschlaffung der Darmwandmuskulatur durch die Äthernarkose eine Rolle, die zu einer Erweiterung des Darmlumens und damit zu einer Vergrößerung der für den aktiven Kochsalztransport in Betracht kommenden Oberfläche führen würde. Jedenfalls hat Gumilewski[1]) beobachtet, daß die Steigerung der Kapazität einer Darmschlinge auch eine Begünstigung der Resorption von Flüssigkeit aus derselben mit sich bringt. Ob dieser Erklärungsversuch das Richtige trifft, bleibt dahingestellt. Es ist durchaus möglich, daß die Morphium-Äthernarkose auch noch in anderer Weise in die verwickelte Nervenregulation eingreift, von der die Darmsaftsekretion einerseits und wahrscheinlich auch die aktive Kochsalzresorption andererseits beherrscht werden.

Nach diesen Ausführungen wird uns auch verständlich, warum im Versuch 2 die Verminderung der absoluten Kochsalzmenge in der unteren Darmschlinge so gering geblieben war (vgl. S. 38). Wegen der drohenden Asphyxie hatte das Tier kaum Äther bekommen, stand also im wesentlichen nur unter Morphiumwirkung.

Die Versuche am Fistelhund beweisen also in Bestätigung der früheren Anschauungen, daß eine Kochsalzresorption im unteren Dünndarm möglich ist, ohne daß dafür Diffusions- oder Filtrationskräfte verantwortlich gemacht werden müßten.

[1]) a. a. O.

Die Diffusion war ausgeschlossen, weil von vornherein Blutserum und eingefüllte Lösung gleiche Kochsalzkonzentration aufwiesen. Das Serum des Fistelhundes enthielt zu Beginn der Versuche am 12. V. 0,60% NaCl, während des Versuches 21 am 25. VII. wurden 0,61% gefunden.

Gegen die Beteiligung von Filtrationskräften sprach auch hier, ebenso wie in den früheren Versuchen, die Tatsache, daß sich die Flüssigkeitsmenge im Darm jedesmal vermehrt hatte. Höchstens ließe sich der Einwand machen, daß die Flüssigkeitsmenge in der Darmschlinge während der Versuchsdauer infolge osmotischen Wassereinstroms schon einmal größer gewesen sei als am Schluß des Versuches, daß aber im weiteren Verlauf dann die Filtrationskräfte die Oberhand gewonnen und wieder einen Teil der Flüssigkeit und mit ihm auch Kochsalz aus dem Darm herausgepreßt hätten. Gegen diese Anschauung sprechen die Versuche, bei denen unter sonst gleichen Bedingungen nur die Verweildauer der Lösungen im Darm geändert worden war. Wir sehen, daß bei Morphium-Äthernarkose eine Verminderung der absoluten Kochsalzmenge auch schon nach 10 Minuten nachweisbar ist, nach $^1/_2$ Stunde aber wesentlich deutlicher in die Erscheinung tritt, während die Flüssigkeitsmenge nach dieser Zeit nicht entsprechend geringer ist, sondern gewöhnlich noch weiter zugenommen hat (Tab. II). Bei den Versuchen ohne Narkose aber bemerken wir, daß die von Anfang an nachweisbare Vermehrung der absoluten Kochsalzmenge im allgemeinen mit der Dauer der Versuche gleichsinnig mit der Flüssigkeit zunimmt (Tab. I). [Versuch 34 fällt allerdings ganz aus dem Rahmen heraus. Wir sehen aber, daß der Gefrierpunkt hier etwa auf den Wert des Blutserums gesunken ist (s. u.).]

Um den angeführten Einwand noch weiter zu entkräften, habe ich bei einigen Versuchen am Schluß mit einem Quecksilbermanometer den Druck in der Darmschlinge gemessen. Den so gefundenen Zahlen wurden in Tab. III die Werte gegenübergestellt, die sich für das am Schluß der Versuche noch vorhandene osmotische Druckgefälle zwischen Darminhalt und Blutserum aus der Differenz der Δ-Werte ergaben. Die Gefrierpunktserniedrigung des Hundeblutserums schwankt nach Heidenhain[1]) von 0,624° bis 0,642°. Ich habe der Berechnung den Höchstwert

[1]) a. a. O.

Tabelle III.

Übersicht über den Darminnendruck und die osmotische Druckdifferenz zwischen Darminhalt und Blutserum am Schluß der Versuche

Nr. des Versuches	Menge der eingeführten Lösung in ccm	Zusammensetzung der eingeführten Lösung	Δ der eingeführten Lösung	Dauer des Versuches	Bemerkungen über Narkose	Gesamtmenge der zurückerhaltenen Flüssigkeit in ccm	Δ der zurückerhaltenen Flüssigkeit	Differenz gegenüber Δ des Blutes	Entsprechende osmotische Druckdifferenz in mm Hg	Darminnendruck am Schluß des Versuchs in mm Hg
32	25	2,2% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,01°	5 Min.	keine	33½	−0,81°	0,17°	1530	30
33	25	„	−1,01°	10 „	„	38	−0,73°	0,09°	810	30
31	25	„	−1,01°	15 „	„	48	−0,72°	0,08°	720	35
34	25	„	−1,01°	20 „	„	42	−0,65°	0,01°	90	25
28	25	3,3% Na_2SO_4 + 0 6% NaCl	−1,33°	5 „	„	33½	−1,02°	0,38°	3420	25
25	25	„	−1,33°	10 „	„	45½	−0,91°	0,27°	2430	25
30	25	„	−1,33°	15 „	„	48½	−0,86°	0,22°	1980	25
26	25	„	−1,33°	20 „	„	50	−0,80°	0,16°	1440	35
23	25	10% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,20°	10 „	„	34½	−0,93°	0,29°	2610	60
29	50	12% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,36°	10 „	Morphium + Äther	62	−1,04°	0,41°	3690	50
24	50	3,3% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,33°	½ Std.	„	58	−0,93°	0,29°	2610	40
35	50	„	−1,33°	½ „	nur Morphium	60	−1,00°	0,36°	3240	50

von 0,64° zugrunde gelegt, weil angenommen werden darf, daß bei meinen Versuchen das Blutserum durch Wasserabgabe an den Darm eingedickt worden ist. Für je 0,3° Differenz sind (nach Heidenhain) 2700 mm Hg in Rechnung zu setzen.

Nun kann zwar der am Schluß des Versuches bestimmte intraintestinale Druck nur für einen Teil der Filtrationskräfte als Maßstab dienen, da dabei die Wirkung des Brückeschen Zottenmechanismus nicht mit berücksichtigt ist, immerhin aber gibt Tab. III einen Einblick in die Größenverhältnisse der beiden einander entgegengesetzt gerichteten Drucke, und man erkennt, daß ein Überwiegen der Filtrationskräfte über das osmotische Druckgefälle in unseren Versuchen offenbar ausgeschlossen ist (Ausnahme wieder Versuch 34, s. o.).

Welche Teile der Darmwand für den aktiven Kochsalztransport verantwortlich gemacht werden müssen, ist schwer zu sagen. Anhaltspunkte dafür könnte höchstens die Tatsache geben, daß die beobachtete Triebkraft sich auf die unteren Dünndarmschlingen beschränkt. Gegenüber dem Jejunum zeichnet sich das Ileum in seinem anatomischen Bau dadurch aus, daß hier die Kerkringschen Falten vermißt werden und die Darmzotten spärlicher ausgebildet sind. Dagegen besitzt der untere Dünndarm zahlreiche Peyersche Haufen, die in den oberen Schlingen fehlen [vgl. v. Ebner[1])]. Für die Fettresorption spielen nun augenscheinlich die Darmfollikel eine Rolle. Sie werden daher als Träger einer resorbierenden Funktion vielfach den Becherzellen als sezernierenden Organen gegenübergestellt (Literatur bei v. Ebner).

Ob auch die Fähigkeit des aktiven Kochsalztransportes den Follikeln zugeschrieben werden darf, bleibt dahingestellt. Gegen eine derartige Annahme sträubt sich zunächst unser Empfinden, weil wir gewohnt sind, den Abtransport der Salze aus dem Darm dem Blutgefäßsystem zuzuschreiben. Immerhin wäre ja ein späterer Übertritt der Salze aus den Lymphbahnen in das Blut möglich, wie er auch für die Salzresorption durch den Brückeschen Zottenmechanismus angenommen wird [Friedenthal[2])].

Außer der Fähigkeit aktiven Kochsalztransportes mußten wir nach den früheren Versuchen der Darmwand noch die Eigenschaft zuschreiben, einen osmotischen Wassereinstrom und ebenso auch das Hineindiffundieren von Salz in den Darm zu hemmen. Es fragt sich, ob auch die Versuchsergebnisse am Fistelhund diese Annahme erforderlich machen? Insbesondere galt es, festzustellen, ob auch hier die Flüssigkeitszunahme bei den hyper-

[1]) In Köllickers Handb. d. Gewebelehre des Menschen. 6. Aufl., Bd. III, S. 204. Leipzig 1902.

[2]) Arch f. (Anat. u.) Physiol. 1900.

tonischen Sulfatlösungen lediglich durch hinzugekommenen Darmsaft bedingt ist, wie das durch die früheren Untersuchungen für die oberen Darmschlingen bewiesen, für die unteren als wahrscheinlich angenommen werden konnte.

Gegen eine Beteiligung osmotischer Vorgänge bei den Veränderungen, die die hypertonischen Sulfatlösungen im Darm erfahren, sprach, wie oben schon auseinandergesetzt wurde, bei den früheren Untersuchungen vor allem die Tatsache, daß die Menge der hinzugekommenen Flüssigkeit in den einzelnen Versuchen nicht von der Gesamtkonzentration der eingefüllten Lösung abhängig war, wie das nach den Gesetzen der Osmose hätte der Fall sein müssen. Bei der früheren Versuchsanordnung mit abgebundenen Darmschlingen war allerdings die Beurteilung insofern erschwert, als die wechselnde Größe der Hunde und die verschiedene Länge der Darmschlingen in ihrem Einfluß auf den Flüssigkeitszuwachs berücksichtigt werden mußten. Beim Fistelhund fallen diese Schwierigkeiten weg, wir werden also erwarten, daß etwa bestehende Gesetzmäßigkeiten hier um so deutlicher zum Ausdruck kommen. Läßt sich keine strenge Abhängigkeit der Flüssigkeitszunahme von der Gesamtkonzentration der eingeführten Lösung nachweisen, so ist eine Osmose auszuschließen. Das umgekehrte Verhalten spricht aber nicht unbedingt für die Beteiligung osmotischer Vorgänge; auch die Darmsaftsekretion könnte mit ansteigender Konzentration der Sulfatlösungen entsprechend stärker angeregt werden.

In Tab. IV sind die Werte für die Mengen der hinzugekommenen Flüssigkeit bei den Versuchen am Fistelhund zusammengestellt. Natürlich sind nur bei derselben Versuchsdauer die Zahlen miteinander vergleichbar. In den zusammengehörigen Teilen der Tabelle sind die Versuche nach der Gesamtkonzentration der eingefüllten Lösung, die in dem Δ-Werte ihren Ausdruck findet, geordnet.

Wir sehen, daß die Menge der hinzugekommenen Flüssigkeit trotz erheblicher Unterschiede in der Konzentration der eingefüllten Lösung vielfach gleich ist. Andererseits läßt sich eine gewisse Abhängigkeit von der Konzentration insofern nicht verkennen, als bei den Versuchen mit niedrigen Δ-Werten verhältnismäßig geringe Flüssigkeitszunahmen häufiger festgestellt wurden, als wenn hochkonzentrierte Lösungen eingefüllt worden waren.

Tabelle IV.

Einfluß der Konzentration der eingeführten Lösung auf die Menge der hinzugekommenen Flüssigkeit.

Nr. des Versuches	Menge der eingeführten Lösung in ccm	Zusammensetzung der eingeführten Lösung	Δ der eingeführten Lösung	Dauer des Versuches	Δ der zurückerhaltenen Flüssigkeit	Menge der hinzugekommenen Flüssigkeit in ccm
32	25	2,2% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,01°	5 Min.	−0,81°	8½
28	25	3,3% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,33°	5 „	−1,02°	8½
33	25	2,2% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,01°	10 „	−0,73°	13
19	25	8% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,05°	10 „	−0,74°	16½
13	25	„	−1,05°	10 „	−0,70°	13
17	25	10% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,20°	10 „	−0,81°	10½
22	25	„	−1,20°	10 „	−0,80°	14½
23	25	„	−1,20°	10 „	−0,93°	9½
25	25	3,3% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,33°	10 „	−0,91°	20½
3	25	3,64% Na_2SO_4 + 0,58% NaCl	−1,35°	10 „	−0,69°	16
5	25	12% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,36°	10 „	−0,93°	11
6	25	„	−1,36°	10 „	−0,80°	20
7	25	„	−1,36°	10 „	−0,80°	20
8	25	„	−1,36°	10 „	−0,83°	19½
9	25	„	−1,36°	10 „	−0,86°	16
12	25	„	−1,36°	10 „	−0,86°	17
16	25	14% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,51°	10 „	−0,99°	19½
20	25	„	−1,51°	10 „	−1,10°	15
31	25	2,2% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,01°	15 „	−0,72°	23
30	25	3,3% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,33°	15 „	−0,86°	23½
11	25	12% ($MgSO_4$ + 7 H_2O) + 0,6% NaCl	−1,36°	15 „	−0,79°	27½
34	25	2,2% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,01°	20 „	−0,65°	17
26	25	3,3% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	−1,33°	20 „	−0,80°	25

Die beobachteten Unterschiede sind jedoch kaum größer, als sie auch bei ganz gleichen Versuchsbedingungen gefunden wurden, und gerade an den äußersten Enden der Reihe sind sie auffallend gering. (Man vergleiche dazu in Tab. IV besonders die Versuche mit einer Dauer von 10 Minuten. Versuch 34 der Tab. IV scheidet ebenso wie bei den früheren Beobachtungen aus, weil dabei wahrscheinlich Filtrationskräfte mit im Spiele waren.)

Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß bei unserer Versuchsanordnung osmotische Vorgänge keine — oder wenigstens keine nennenswerte — Rolle spielen. Auch die Größe der Darmsaftsekretion ist offenbar erst in zweiter Linie von der Sulfatkonzentration abhängig, sie wird anscheinend in der Hauptsache von anderen (wahrscheinlich nervösen) Einflüssen beherrscht.

Wenn somit für die Zunahme der Flüssigkeit im Darm ein osmotischer Wassereinstrom nicht in Betracht kommt, bleibt nur übrig, sezernierten Darmsaft dafür verantwortlich zu machen. Für diese Annahme auch positive Beweismittel zu erbringen, ist unsere weitere Aufgabe.

In den oberen Darmschlingen konnte der Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit an NaCl als Anhaltspunkt dienen, ob man es mit Darmsaft zu tun hatte oder nicht, in den unteren Schlingen ist das wegen der Fähigkeit aktiven Kochsalztransportes durch die Schleimhaut nicht möglich. Ich habe daher versucht, hier für diesen Zweck die anderen normalen Bestandteile des Darmsaftes, das Eiweiß und das Natriumcarbonat, heranzuziehen.

Das Eiweiß wurde nach Kjeldahl bestimmt. Für die Carbonatanalyse wurde der filtrierte Darminhalt zunächst im Überschuß mit $^n/_{10}$-Schwefelsäure versetzt und zur Vertreibung der Kohlensäure erhitzt, nach dem Erkalten wurde dann die überschüssige Säure mit Natronlauge zurücktitriert, wobei Lackmustinktur als Indicator diente. Die gefundenen Werte wurden auf Na_2CO_3 umgerechnet. Analysen sind nur an der durch Ausblasen gewonnenen Flüssigkeit angestellt, für die im Darm zurückgebliebenen Restmengen wurden die Werte ausschließlich in der beschriebenen Weise indirekt ermittelt. Wegen der Möglichkeit einer Umsetzung des Carbonats mit dem Magnesiumsulfat wurden Sodabestimmungen nur bei den Versuchen mit Natriumsulfatlösungen gemacht.

Aus den für Eiweiß und für Natriumcarbonat gefundenen Werten und aus der Menge der hinzugekommenen Flüssigkeit wurde dann deren Prozentgehalt an den betreffenden Stoffen berechnet (Tab. V).

Der Eiweißgehalt des Darmsaftes des Hundes beträgt nach Thiry[1]) 0,8%. Gumilewski[2]) fand bei Vellafisteln einen sehr wechselnden Gehalt des Sekretes an Eiweiß. Er nimmt an, daß bei seinen Untersuchungen das Eiweiß zum Teil aus den Schleimmassen stammte, die sich in der Fistel während der Ruhe angesammelt hatten und mit den ersten Portionen Darmsaft entleert wurden. Der Prozentgehalt des Darmsaftes an Eiweiß nahm nämlich mit der Dauer der Absonderung ab.

In meinen Versuchen war der Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit an Eiweiß ebenfalls erheblichen Schwankungen

[1]) Zit. nach Hermann, Lehrb. d. Physiol. 13. Aufl., S. 571. Berlin 1905.

[2]) a. a. O.

Tabelle V.

Übersicht über den Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit an Eiweiß und an Natriumcarbonat.

Nr. d. Versuchs	Menge der eingeführten Lösung in ccm	Zusammensetzung der eingeführten Lösung	Dauer des Versuchs	Art der Narkose	Menge der hinzugekommenen Flüssigkeit in ccm	Menge des hinzugekommenen Eiweißes in g	Proz.-Gehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit an Eiweiß	Menge des hinzugekommenen Na_2CO_3 in g	Proz.-Gehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit an Na_2CO_3
13	25	8% ($MgSO_4 + 7\,H_2O$) + 0,6% NaCl	10 Min.	keine	13	0,07	0,55		
19	25	„	10 „	„	16½	0,05	0,30		
17	25	10% ($MgSO_4 + 7\,H_2O$) + 0,6% NaCl	10 „	„	10½	0,08	0,69		
22	25	„	10 „	„	14½	0,07	0,48		
23	25	„	10 „	„	9½	0,14	1,58		
6	25	12% ($MgSO_4 + 7\,H_2O$) + 0,6% NaCl	10 „	„	20	0,15	0,75		
9	25	„	10 „	„	16	0,09	0,56		
12	25	„	10 „	„	17	0,05	0,29		
11	25	„	15 „	„	27½	0,07	0,25		
16	25	14% ($MgSO_4 + 7\,H_2O$) + 0,6% NaCl	10 „	„	19½	0,05	0,26		
20	25	„	10 „	„	15	0,05	0,33		
10	50	12% ($MgSO_4 + 7\,H_2O$) + 0,6% NaCl	10 „	„	16	0,14	0,88		
29	50	„	10 „	Morphium + Äther	12	0,05	0,42		
14	50	„	½ Std.	nur Äther	17	0,10	0,60		
15	50	„	½ „	Morphium + Äther	26½	0,10	0,36		
18	50	„	½ „	„	18½	0,06	0,36		
21	50	„	½ „	„	23	0,07	0,30		
32	25	2,2% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	5 Min.	keine	8½	0,05	0,62	0,033	0,39
33	25	„	10 „	„	13	0,04	0,31	0,045	0,35
31	25	„	15 „	„	23	—	—	0,092	0,40
34	25	„	20 „	„	17	0,05	0,31	0,064	0,38
28	25	3,3% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	5 „	„	8½	0,06	0,69	0,040	0,45
25	25	„	10 „	„	20½	0,06	0,28	0,074	0,36
30	25	„	15 „	„	23½	0,06	0,26	0,080	0,35
26	25	„	20 „	„	25	0,10	0,40	0,115	0,46
27	50	3,3% Na_2SO_4 + 0,6% NaCl	10 „	Morphium + Äther	9	0,07	0,73	0,042	0,46
35	50	„	½ Std.	nur Morphium	10	0,14	1,40	0,045	0,45
24	50	„	½ „	Morphium + Äther	8	0,11	1,41	0,035	0,44

unterworfen, von irgendeiner Gesetzmäßigkeit kann keine Rede sein. Eine größere Übereinstimmung zeigen schon die absoluten Eiweißwerte, aber auch hier fallen manche Zahlen ganz aus der Reihe heraus. Unsere Befunde passen also recht gut zu den unter anderen Bedingungen gewonnenen Erfahrungen Gumilewskis und lassen sich auch in derselben Weise erklären. Als Maßstab für die Menge des sezernierten Darmsaftes aber sind die Eiweißwerte nicht zu brauchen.

Der Carbonatgehalt des Darmsaftes zeigte bei den Untersuchungen Gumilewskis bei verschiedenen Tieren zwar gewisse Unterschiede, bei ein- und derselben Vellafistel aber war der Gehalt des Sekretes an Natriumcarbonat auffallend konstant. Er schwankte beispielsweise in einem Falle nur von 0,40 bis 0,49% und Röhmann[1]), ein anderer Schüler Heidenhains, fand bei demselben Tiere nach mehr als einem Jahre noch den gleichen Wert. Andere Autoren geben etwas andere Zahlen an.

Wegen der Gleichmäßigkeit im Carbonatgehalt des Darmsaftes hat Röhmann bereits versucht, die Alkalescenz der zurückerhaltenen Flüssigkeit bei Resorptionsversuchen als Maßstab für die sezernierte Darmsaftmenge zu verwenden, seine Versuche sind aber in dieser Hinsicht nicht einwandfrei, weil dabei die Filtrationskräfte nicht ausgeschaltet worden waren, infolgedessen also ein Teil des Carbonates zurückresorbiert werden konnte. Heidenhain[2]) selbst konnte sich bei seiner Versuchsanordnung mit abgebundenen Darmschlingen von der Konstanz im Carbonatgehalt des Darmsaftes nicht überzeugen, er hat daher, wie er ausdrücklich hervorhebt, bei seinen Resorptionsversuchen eine etwaige Sekretion von Darmsaft überhaupt nicht berücksichtigt, was meines Erachtens einen Rückschritt bedeutete.

Bei meinen eignen Versuchen am Fistelhund zeigen nun die Zahlen, die für den Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit an Na_2CO_3 berechnet wurden, eine erfreuliche Übereinstimmung. Auch bei ganz verschiedenen Versuchsbedingungen schwanken die Werte nur zwischen 0,35% und 0,46% (Tab. V). Das ist um so bemerkenswerter, als ja auch die beiden den Berechnungen zugrunde liegenden Zahlen erst durch ein umständliches indirektes Verfahren ermittelt worden waren.

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **41**. 1887.
[2]) A. a. O.

Durch diese Befunde ist, wie ich glaube, erwiesen, daß auch in den unteren Darmschlingen hypertonische Sulfatlösungen lediglich durch hinzukommenden Darmsaft vermehrt werden. Daraus ergibt sich zugleich, daß bei unserer Versuchsanordnung weder Flüssigkeit durch Osmose, noch Carbonat durch Diffusion in den Darm gelangt, daß also offenbar beide Vorgänge in der Richtung vom Blut zum Darmlumen gehemmt sind. Eine aktive Resorption, wie wir sie für Kochsalz gefunden haben, besteht für Natriumcarbonat anscheinend nicht.

Wenn nun, wie nachgewiesen wurde, die Flüssigkeitsvermehrung der Sulfatlösungen durch Darmsaft bedingt ist, so muß damit — zunächst wenigstens — auch Kochsalz in den Darm hineingelangt sein. Diese durch Sekretion hinzugekommene Kochsalzmenge muß berücksichtigt werden, wenn man über die wirkliche Größe der Resorption des Kochsalzes im Darm ein Urteil gewinnen will. In der letzten Spalte der Tab. I und II habe ich die entsprechenden Werte für die Gesamtresorption an NaCl zusammengestellt. Der Kochsalzgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit ist dabei mit 0,55% in Anrechnung gebracht. Es fragt sich, ob sich nunmehr gewisse Gesetzmäßigkeiten in der Größe der Kochsalzresorption erkennen lassen. Wie der Einfluß der Narkose bei diesen Zahlen zum Ausdruck kommt, wurde oben schon besprochen (S. 45).

Aber auch bei den Versuchen ohne Narkose tritt bei dieser Betrachtungsweise die Wirkung der aktiven Kochsalzresorption deutlich hervor, und zwar zeigen die Zahlen eine zufriedenstellende Übereinstimmung. In gleichen Zeiten sind im großen und ganzen auch gleiche Mengen von Kochsalz aufgenommen worden, mit zunehmender Versuchsdauer aber steigen die Werte für die NaCl-Resorption entsprechend an (Tab. I). Nur die ersten Versuche (3, 6 und 7) fallen durch zu hohe Zahlen auf. (Bei Versuch 6 und 7 waren übrigens auch die Werte für die Sekretion besonders groß gewesen. Vgl. Tab. III.) Vielleicht hängt das damit zusammen, daß bei der Vellafistel die Funktion der Darmschlinge wegen der Ausschaltung aus den normalen Verhältnissen überhaupt mit der Zeit nachgelassen hat.

Zusammenfassung.

Die Darmwand besitzt die Fähigkeit:

1. das Hineindiffundieren von Blutsalzen in den Darm zu hemmen,

2. einen osmotischen Wassereinstrom in den Darm zu hemmen,

3. Kochsalz auch ohne gleichzeitige Wasseraufnahme und gegen ein Diffusionsgefälle, also ohne Mitwirkung von Filtrations- und Diffusionskräften, zu resorbieren. Diese Fähigkeit ist im wesentlichen auf die unteren Darmschlingen beschränkt.

Die Filtrationskräfte können durch Anwendung hypertonischer Sulfatlösungen, die Diffusionskräfte dadurch ausgeschaltet werden, daß man den Lösungen von vornherein eine mit dem Blutserum übereinstimmende Kochsalzkonzentration von 0,6% gibt.

Neben den Resorptionsvorgängen geht stets auch eine Sekretion von Darmsaft einher.

Die in hypertonische Sulfatlösungen einströmende Flüssigkeit besteht lediglich aus Darmsaft, Diffusion und Osmose spielen also dabei keine Rolle.

Als Beweis dafür diente in den oberen Darmschlingen der Prozentgehalt der hinzugekommenen Flüssigkeit an Kochsalz; in den unteren Darmschlingen wurde deren Prozentgehalt an Natriumcarbonat herangezogen, weil hier das sezernierte Kochsalz zum Teil wieder zurückresorbiert wird.

Ein Überwiegen des Kochsalztransportes vom Darmlumen zum Blut über die Kochsalzsekretion mit dem Darmsaft und damit eine Abnahme der absoluten Kochsalzmenge im Darm findet in der Regel nur in tiefer Morphium-Äthernarkose statt. Der direkte Beweis für das Vorhandensein einer aktiven Kochsalzresorption im unteren Dünndarm ist somit nur bei Anwendung der Morphium-Äthernarkose zu erbringen.

Bemerkungen über den Blutkalk.*)

Von

M. Richter-Quittner.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserin Elisabeth-Spitales in Wien.)

(Eingegangen am 17. November 1920.)

Die Probleme, deren Lösung Blutkalkuntersuchungen zum Gegenstand haben, sind für die Physiologie wie für die Pathologie von gleichem Interesse, spielen doch die Kalksalze bei der Gerinnung des Blutes eine sehr große Rolle.

Die außerordentlich interessanten Untersuchungen von Brinkman und van Dam ergeben, daß den freien Calciumionen im Blute eine ähnliche Rolle zufällt wie den H-Ionen. Eine Änderung der freien Calciumionenkonzentration würde für den Organismus die schwersten Störungen zur Folge haben, da die Konstanz der Ca-Ionenkonzentration für den Kolloidzustand des Blutgewebes ebenso belangreich ist wie die der H-Ionenkonzentration. Das Calcium kommt im Blute in 3 Formen vor als $Ca^{\cdot\cdot}$-Ion, als undissoziertes Kalksalz $Ca(HCO_3)_2$ und als kolloidale Calciumeiweißverbindung. Die Untersuchungen von Rona und Takahashi bestätigen diese Annahme. Sie finden mit ihrer Methode der Kompensationsdialyse, daß ein Teil der Kalksalze in nichtdialysabler Form im Blute kreist.

Leider lassen sich für diese überaus interessanten Fragen die Angaben der Literatur nur zum kleineren Teil verwenden, da der Methodik zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Bei Blutkalkbestimmungen herrschen wie überhaupt in der Blutchemie sehr große Unstimmigkeiten. Der Kalkgehalt des Blutes wird von den meisten Autoren als CaO angegeben, von anderen wieder als Ca oder als $CaSO_4$. Die gefundenen Werte werden meistens auf das Blut, manchmal wieder auf die Blutasche bezogen. Die Bestimmungen erfolgen ziemlich willkürlich im Gesamtblut, Plasma oder Serum. Eine chemische Blutanalyse muß aber von chemischen und biologischen Gesichtspunkten aus richtig sein. Die chemische Blutkalkanalyse hat bis vor kurzem sehr viel zu wünschen übriggelassen. Es wurden gravimetrische Methoden, die sehr viel Blut benötigen, angewendet. Bei derartigen Analysen gelingt es niemals, den gewünschten Grad von Genauig-

*) Mitgeteilt in der Wiener biol. Gesellschaft am 23. XI. 1920.

keit zu erreichen, da während der Wägung ein kleinerer oder größerer Teil des CaO in $CaCO_3$ übergehen kann. Nun hat Jansen vor 2 Jahren eine sehr sorgfältig ausgearbeitete Methode angegeben, die es gestattet, in ca. 10 ccm Blut, Plasma oder Serum eine einwandfreie Calciumbestimmung auszuführen. Jansen stellt eine Glühasche her, in welcher er das gesamte Calcium als CaO und $CaSO_4$ erhält. Diese wird mit Salzsäure gelöst, die Phosphorsäure mit Fe_2Cl_6 abgeschieden und das Eisen als basisches essigsaures Eisenphosphat ausgefällt. Die Kalksalze werden schließlich als Oxalate niedergeschlagen, durch Glühen in CaO übergeführt und der Kalkgehalt maßanalytisch nach den Prinzipien der Alkalimetrie ermittelt. An Stelle der Alkalimetrie resp. Acidimetrie verwende ich die Jodometrie und bestimme den Kalk nach den bewährten Vorschriften von Bang mit $^n/_{100}$-Natriumthiosulfat und Stärke als Indikator. Es ist bekannt, daß selbst gebrauchte Jenenser Glasgeräte etwas Alkali abgeben können, was in Anbetracht der kleinen Kalkmengen, die zur Bestimmung gelangen, Fehler veranlassen kann. Die von Jansen angegebene Blutkalkmethode ist meiner Ansicht nach vom chemischen Standpunkt aus exakt, doch lassen sich auch gegen die, mit dieser Methode ausgeführten Untersuchungen von biologischen Gesichtspunkten aus mancherlei Bedenken geltend machen. Ich möchte hier folgende Punkte anführen:

1. Für Blutkalkbestimmung darf das Blut nicht mit Natriumcitrat, Natriumoxalat usw. ungerinnbar gemacht werden, sondern ausschließlich nur mit Hirudin.

2. Für Blutkalkbestimmungen darf das Blut nicht defibriniert werden, da bei der Gerinnung zugleich mit dem Fibrin ein Teil der Kalksalze ausfällt.

3. Aus dem gleichen Grunde geben Bestimmungen im Serum zu niedrigere Werte.

4. Neben der Bestimmung des Gesamtcalciums, erscheinen Messungen der freien Ca-Ionenkonzentration sehr wünschenswert.

Eine große Versuchsreihe, welche Professor Falta mit mir durchgeführt, hat zum Gegenstand die chemische Zusammensetzung der Blutkörperchen des strömenden Blutes zu studieren. Unter Beobachtung aller Kautelen, die ich soeben angeführt habe, konnte ich im Gegensatz zu den Untersuchungen aller neueren Autoren zeigen, daß die Blutkörperchen des Men-

schen und aller von uns untersuchten Tierarten sowohl unter physiologischen wie auch unter pathologischen Bedingungen keine Kalksalze enthalten[1]).

In neuester Zeit haben sich Hamburger und Jansen mit diesen Fragen befaßt und kommen zu dem Schluß, daß die Blutkörperchen des Menschen und des Rindes wechselnde Mengen Kalk enthalten. Diese läßt sich auf einfache Weise erklären. Jansen macht das Blut mit Natriumcitrat ungerinnbar, die meisten anderen Autoren mit Natriumoxalat. Wenn man das Blut durch kalkfällende Salze ungerinnbar macht, so wird naturgemäß ein großer Teil der im Blute vorhandenen Kalksalze ausgefällt. Das Calciumoxalat verteilt sich im Blute in sehr feiner Suspension, so daß man im Gesamtblute annäherungsweise richtige Werte erhalten kann. Beim Zentrifugieren des Blutes zwecks Plasmagewinnung wird das Calciumoxalat zugleich mit den Blutkörperchen ausgeschleudert und man erhält im Plasma zu niedrige Werte. Wenn man nun den Kalkgehalt der Blutkörperchen auf indirektem Wege aus den Zahlen für das Gesamtblut und das Plasma mit Hilfe des für das Blutkörperchenvolumen gefundenen Wertes ermittelt, so errechnet man auf diese Weise einen Kalziumgehalt der Blutkörperchen, der in Wirklichkeit gar nicht vorhanden ist. Bei Anwendung von Natriumcitrat erhält man merkwürdigerweise ganz analoge unrichtige Zahlen. Man erhält im Plasma nahezu identische Werte, gleichgültig ob das Blut mit Natriumcitrat oder Natriumoxalat ungerinnbar gemacht wurde. Diese Ergebnisse sind überraschend, da ja die Kalksalze durch Natriumcitrat nicht ausgefällt werden, im Gegenteil die Fällungsreaktionen des Calciums durch Natriumcitrat verhindert werden. Man nimmt an, daß die Konzentration der freien Ca-Ionen durch Natriumcitrat herabgedrückt wird. Wir sehen aber, daß im Blute die Konzentration des Gesamtcalciums durch Zusatz von Natriumcitrat herabgedrückt wird. Da wir über die Ionengleichgewichte im Blute heute viel zu wenig orientiert sind, läßt sich dieser Vorgang chemisch nicht formulieren. Man kann daran denken, daß im Blute durch Zusatz von Natriumcitrat das Löslichkeitsprodukt für Kalksalze überschritten wird.

Hamburger setzt den Blutkörperchen extra Corpus $CaCl_2$

[1]) Vgl. Wien. Arch. 2, Heft 2.

zu und zieht aus seinen Versuchen den Schluß, daß die Blutkörperchen des Rindes Kalksalze sowohl ein- wie austreten lassen. Daß die Blutkörperchen durch dieses Verfahren permeabel für Kalksalze wurden, ist nicht wunderbar und gestattet keinen Schluß auf das Verhalten derselben unter physiologischen Versuchsbedingungen. Selbst im strömenden Blute kann man Eindringen von Kalksalzen aus dem Plasma in die Blutkörperchen herbeiführen, wenn man durch perorale große Gabe von Kalksalzen den Blutkalkspiegel stark erhöht. Wir haben bei Menschen und Tieren sehr große Dosen Calcium lacticum peroral gegeben und das Blut einige Stunden nach der letzten Gabe früh nüchtern untersucht. In Übereinstimmung mit Heubner konnte ich zeigen, daß unter diesen Versuchsbedingungen der Kalkgehalt des Blutes sehr stark ansteigt und daß Kalksalze in die Blutkörperchen eindringen. Derartige Veränderungen des Kalkgehaltes des Blutes haben für den Organismus meist schwere Störungen zur Folge.

Vielfach werden Kalkbestimmungen im Serum resp. im defibriniertem Blute ausgeführt. Wie bereits erwähnt, führen solche Untersuchungen zu unrichtigen Vorstellungen. Ernst Freund hat als erster gezeigt, daß die Kalksalze bei der Gerinnung des Blutes eine sehr große Rolle spielen, und daß der Gerinnungsvorgang überhaupt nur bei Gegenwart gelöster Kalksalze möglich ist. Ich habe vergleichende Untersuchungen im Hirudinplasma und im Serum angestellt und finde im Serum regelmäßig bedeutend niedrigere Werte als im Plasma. Ebenso zeigt das defibrinierte Blut niedrigere Kalkwerte als das Hirudinblut. Die Differenzen sind ziemlich groß, bedeutend größer als nach Kalkbestimmungen des Fibrins zu erwarten gewesen wäre. Hier zeigt sich wieder die indirekte Methode der direktem überlegen, denn das Fibrin muß ausgewaschen werden, um es von anhaftenden Blut oder Plasmaresten zu befreien, wodurch Kalksalze mitgelöst werden.

Ich möchte mir zum Schlusse noch erlauben, auf eine andere Tatsache aufmerksam zu machen. Die Methode von Jansen, nach welcher die Eiweißkörper des Blutes durch Veraschung zerstört werden, gestattet nur das Gesamtcalcium nicht, aber das freie Calcium zu bestimmen. Die biologischen Wirkungen des Salzes dürften aber wohl in erster Linie von den Ionenwirkungen herrühren und so scheint es mir, daß wir uns erst eine Vorstel-

lung von der Funktion, welche dem Calcium im Stoffwechsel zukommt, werden machen können, wenn Messungen der Calciumionenkonzentration vorliegen werden.

Bekanntlich war es bisher nur möglich, die Konzentration der freien Wasserstoffionen, nicht aber diejenige eines anderen Salzes in physiologischen Flüssigkeiten zu bestimmen. Ich habe daher versucht, in Anlehnung an die Versuche von Rona und Takahashi das freie nicht an Eiweiß gebundene Calcium mittels Dialyse zu bestimmen. Diese Methode ist selbstverständlich nicht einwandfrei, da während des Dialysierens ein Teil der Eiweißkalkverbindungen aufgespalten werden kann.

Nach Abschluß dieser Arbeit ist mir eine Arbeit von Brinkman und van Dam zugekommen, in welcher diese Autoren auf sehr elegante Weise die freien Ca-Ionen in Ultrafiltraten mit Hilfe des Löslichkeitsproduktes ermitteln. Sie finden die Ca-Ionenkonzentration unter physiologischen Bedingungen außerordentlich konstant. Sie finden in Übereinstimmung mit Rona und Takahashi, daß die Ca-Ionenkonzentration nicht vom Gesamtcalciumgehalt, sondern von der H'- und HCO_3'-Ionenkonzentration nach folgender Gleichung $\frac{[Ca^{\cdot\cdot}][HCO_3]'}{H^{\cdot}} = k$ abhängig ist. Es ist selbstverständlich auch möglich, auf diese Weise die HCO_3'-Spannung zu bestimmen.

Es ist zu erwarten, daß die Methode von Brinkman und van Dam zur Bestimmung der freien Ca-Ionenkonzentration für die biologische Blutchemie große Bedeutung erlangen wird, verspricht doch die Ermittlung der Ionenkonzentration im Blute viel mehr Aussicht auf Erfolg als die bisher übliche der Salzwirkungen resp. der Aschenanalysen.

Derartige Versuche sind im Gange.

Literatur.

[1]) Brinkman, R., Einige Bemerkungen über die Bedeutung des Blutkalkes. Diese Zeitschr. **95**, 101. 1919. — [2]) Brinkman, R., und E. van Dam, A method for the determination of the ionconcentration in ultrafiltrates and other proteinfree solutions. Proceedings **22**, 1. 1919. — [3]) Hamburger, H. I., Über den Durchtritt von Ca-Ionen durch die Blutkörperchen. Zeitschr. f. physikal. Chemie **69**, 663. 1909. — [4]) Jansen, Zur Methodik der Bestimmung des Blutkalkes. Zeitschr. f. physiol. Chemie **101**, 176. 1918. — [5]) Rona, P., und Takahashi, Beitrag zur Frage nach dem Verhalten des Calciums im Serum. Diese Zeitschr. **49**, 370. 1913.

Über eine Farbenreaktion von Glycinanhydrid und der Dipeptidanhydride, welche eine Glycylkomponente in sich schließen.

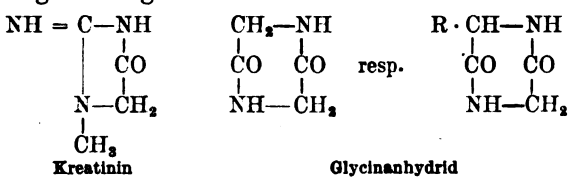
Von

Takaoki Sasaki.

(Aus dem Sasaki-Laboratorium in Kyoundo-Hospital zu Tokio.)

(Eingegangen am 22. November 1920.)

Die bekannte Jaffésche Reaktion auf Kreatinin mit Pikrinsäure und Alkali zeigen auch viele andere Verbindungen, so z. B. Glykocyamidin, Aceton, Acetessigsäure und Acetessigester[1]), nur in Bezug auf Geschwindigkeit und Intensität mehr oder weniger verschieden. Die Zuckerarten, Glucose, Fructose und Lactose, haben dieselbe Farbenreaktion, so daß sie in neuerer Zeit von amerikanischen Biochemikern zu einer colorimetrischen quantitativen Bestimmung der Zuckerarten[2]) vorgeschlagen worden ist. An Intensität und Empfindlichkeit ist jedoch Kreatinin überlegen. Wenn man einmal die Konstitutionsformel des Kreatinins mit derjenigen des Glycinanhydrides vergleicht, so fallen jedem die große Ähnlichkeit und die Gemeinsamkeit einer Atomgruppierung ins Auge:



Kreatinin — Glycinanhydrid

Somit ist es nicht befremdlich, daß die dem Kreatinin eigene Reaktion auch dem Glycinanhydrid zukommt, welche ebenso bei dl-Alanylglycinanhydrid, dl-Leucylglycinanhydrid und Glycyl-l-tyrosinanhydrid beobachtet wurde.

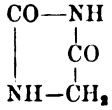
Die Reaktion ist nicht so lebhaft wie bei Kreatinin, daß sie sofort in der Kälte eintritt, sondern man muß erwärmen, um die

[1]) Vgl. C. Neuberg, Der Harn. **1913**. S. 619.

[2]) R. C. Lewis and St. R. Benedict, Journ. of Biolog. Chem. **20**, 61. 1915. — A. J. P. Pacivi and D. W. Rusell, Journ. of Biolog. Chem. **34**, 505. 1918.

Reaktion sofort herbeizuführen. Infolgedessen muß man statt freien Alkalis Natriumcarbonat verwenden.

Glykokollhydantoin zeigt dieselbe Reaktion.

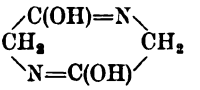


Da auch nichtstickstoffhaltige Verbindungen, wie die erwähnten Substanzen und die Zuckerarten usw., und, wie ich m. W. zuerst erkannte, Desoxybenzoin und Malonester auch eine analoge Reaktion aufweisen, ist die stickstoffhaltige Kette nicht immer für das Zustandekommen der Reaktion notwendig. Dagegen scheint das Vorhandensein der leicht beweglichen, reaktionsfähigen Wasserstoffatome die Hauptrolle zu spielen. Desoxybenzoin und Malonester wurden allerdings in alkoholischer Lösung mit einigen Tropfen gesättigter alkoholischer Pikrinsäurelösung geprüft. Die intensiv rote Farbenreaktion tritt nach Zusatz der sehr verdünnten Natronlauge sofort schon in der Kälte[1]) zutage, während sie bei Malonsäure, Benzoin, Hydrobenzoin und Benzyl fehlt. Daß Essigsäure, Zuckersäure usw. und auch Malonsäure trotz des Vorhandenseins der Atomgruppierung HCH_2CO resp. $COCH_2CO$ nicht die Farbenreaktion geben, stimmt mit der bisherigen Erfahrung über die Beweglichkeit von der betreffenden Wasserstoffatome und läßt sich auch nach Thiele[2]) ganz gut erklären, während für das Fehlen der Farbenreaktion bei Essigester wie für die weitaus geringere Beweglichkeit seiner Methylenwasserstoffatome noch eine befriedigende Erklärung aussteht. Andererseits genügt die NH—CO-Gruppe allein nicht für das Zustandekommen dieser Farbenreaktion, denn man vermißt sie bei der Harnsäure und dem Phenylharnstoff. Daß diese Farbenreaktion dem Chloressigester fehlt, während sie bei Acetessigester intensiv ausfällt, bestätigt auch die Henrische Erfahrung, daß die Halogene nicht zu den reaktionserleichternden Gruppen gehören, während die Gruppe mehrwertiger Atome in mehrfacher Bindung, so z. B. die benachbarten Methylenwasser-

[1]) Man darf nicht dabei erhitzen, weil Äthylalkohol selbst beim Erhitzen unter Zusatz der Pikrinsäure und Ätzalkali einen roten Farbenumschlag zeigt.

[2]) Liebigs Annalen **306**, 116. 1899.

stoffe beweglich macht[1]). Da die Gruppe $-N=C(OH)$ eine reaktionserleichternde sein soll, ist denkbar, daß Hindernisse für die Entstehung dieser Gruppierung auch vernichtend auf den reaktionserleichternden Einfluß sind. Daß dem Glycinanhydrid außer der üblichen Ketoform auch die folgende Enolform



zugeschrieben werden kann, wurde von E. Fischer[2]) für wahrscheinlich gehalten. Ich habe beobachtet, daß die Benzoylierung am Stickstoff des Glycinanhydrides das Auftreten dieser Farbenreaktion vernichtet, denn N-Dibenzoylglycinanhydrid zeigt nicht mehr diese Reaktion. Das ist mit Recht daraus zu erklären, daß die Benzoylgruppe durch Besetzung des Iminowasserstoffes durch Tautomerie der Doppelbindung des Stickstoffes, welche nach Henrich für den reaktionserleichternden Einfluß von Nutzen sein soll, im Wege steht. Die Tatsache spricht für Fischers Annahme der tautomeren Formulierung des Glycinanhydrides.

Der Eintritt dieser Reaktion erfordert ferner wenigstens eine Methylengruppe in dem geeigneten Reihenverhältnisse, denn sie fehlt bei Leucinanhydrid und Phenylalaninanhydrid, bemerkenswerterweise auch bei Benzaldehyd, Zimtaldehyd und Furfurol, trotz ihrer Aldehydnatur. Somit handelt es sich dabei nicht um eine einfache Reduktion, sondern ein anderer Faktor spielt dabei noch eine gewisse Rolle[3]).

Daß der negative Ausfall dieser Reaktion aber nicht immer Kondensationsmöglichkeiten mit einem Aldehyd unter anderen Bedingungen, z. B. einem sauren Medium, ausschließt, dafür spricht das Verhalten der Hippursäure, denn sie gibt nicht die Farbenreaktion trotz ihrer Kondensationsfähigkeit mit Aldehyden. Die Reaktion kann zum Erkennen sehr beweglicher Methylenwasserstoffatome eventuell von Nutzen sein. Das festzustellen, bedarf man allerdings noch weit größeren Beobachtungsmaterials.

[1]) Vgl. Meyer und Jacobson, Lehrb. d. org. Chem. I, 418. 1907.

[2]) B. **39**, 569. 1906.

[3]) Daß das für gewöhnlich als ein organisches Lösungsmittel reaktionsträge Aceton in Gegenwart der Alkali eine ausgeprägte Auflockerung seiner Wasserstoffatome offenbart, zeigt die bekannte Claisensche Reaktion, Annalen d. Chemie u. Pharmacie **223**, 143. 1884.

Die bisher von mir beobachteten Daten lassen sich wie folgt zusammenstellen:

Kreatinin, Glukocyamidin	Inosit, Glukonsäure, Glukoheptonsäurelakton, Zuckersäure, Schleimsäure
Glukose, Fruktose, Laktose	
Glukosamin	
Aceton, Acetessigsäure, Acetessigester und Malonester	Benzaldehyd, Furfurol, Zimtaldehyd
	Essigsäure, Essigester, Chloressigester
Desoxybenzoin	Malonsäure
Benzoin (vorübergehend, schwach)	Hydrobenzoin
Glycinanhydrid	Benzyl
dl-Alanylglycinanhydrid	N-Dibenzylglycinanhydrid
dl-Leucylglycinanhydrid	Leucinanhydrid
Glycyl-l-tyrosinanhydrid	Phenylalaninanhydrid, Harnsäure,
Glykokollhydantoin	Harnstoff, Phenylstoff

Weil auch so zahlreiche andere Substanzen die analoge Farbenreaktion wie Zucker geben, hat man bei der Verwendung dieser Farbenreaktion zur Zuckerbestimmung immer irgendeine eventuelle Fehlerquelle zu gewärtigen, besonders wenn es sich dabei um minimale Zuckermengen im pathologischen Blute handelt.

Experimenteller Teil.

0,03—0,05 g Glycinanhydrid oder andere in Wasser mehr oder weniger lösliche Substanzen wurden mit 1,0 ccm gesättigter, wässeriger Pikrinsäurelösung versetzt und sodann nach Zusatz von 3,0—4,0 ccm gesättigter Natriumcarbonatlösung allmählich zum Sieden erhitzt. In der schönen, tiefroten Färbung besteht der positive Ausfall der Reaktion, während im negativen Falle die ganze Flüssigkeit fast unverändert gelb bleibt. Die kaum in Wasser löslichen Substanzen wie Malonester, Desoxybenzoin usw. wurden in wenig Alkohol gelöst und mit 1,0 ccm gesättigter alkoholischer Pikrinsäurelösung versetzt. Nach tropfenweisem Zusatz der Normalnatronlauge tritt die schöne tiefrote Färbung in der Kälte zutage.

N-Dibenzoyldiacipiperazin wurde auch auf folgende Weise geprüft: Die Substanz (0,03—0,05 g) wurde auch in 1,0 ccm Alkohol unter Erwärmen möglichst aufgelöst, dann mit 1,0 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung versetzt und unter Zusatz von 4,0 ccm gesättigter Natriumcarbonatlösung vorsichtig bis zum Sieden erhitzt. Dabei war keine Farbenänderung zu konstatieren.

Über die Synthese des d,l-3,4-Dioxyphenylalanins.

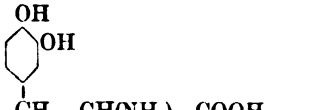
Von

Kinsaburo Hirai.

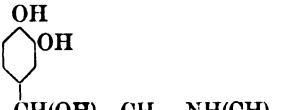
(Aus dem Sasaki-Laboratorium in Kyoundo-Hospital zu Tokio.)

(Eingegangen am 22. November 1920.)

Trotz aller Bemühungen hervorragender Forscher auf dem Gebiet der Eiweißchemie bleibt es noch immer unmöglich, das Eiweiß quantitativ ohne Verlust in die einzelnen Bausteine zu zerlegen. Selbst wenn eine geübte Hand mit möglichst vollkommener Technik arbeitet, kann die Ausbeute doch niemals den Wert übersteigen, der höchstens zwischen 80% bis 85% erreicht, so daß stets ein mehr oder weniger großes Defizit zwischen der Summe der bei einer Eiweißhydrolyse isolierten Spaltungsprodukte und dem Ausgangsmaterial besteht. Ob dies wirklich von der Existenz bisher unbekannter Eiweißspaltungsprodukte oder durch die Ungenauigkeit der angewandten Methoden bedingt ist, kann man vorläufig nicht entscheiden; es besteht aber die Möglichkeit, daß ein Teil jenes Mancos durch die Entdeckung neuer Bruchstücke des Eiweißmoleküls gedeckt wird. In der Hinsicht ist sehr interessant, daß Torquati und Guggenheim[1]) l-3,4-Dioxyphenylalanin aus Vicia faba darstellen konnten, besonders auch inbezug auf die Frage nach der Muttersubstanz von Adrenalin im Tierkörper. Als Quelle dieses physiologisch wichtigen Bestandteils des Nebennierenmarkes dürfte das Dioxyphenylalanin wohl zunächst unter bisher bekannten Aminosäuren in Betracht kommen, wenn man die chemische Konstitution der beiden Verbindungen, Adrenalin und Dioxyphenylalanin, vergleichend ins Auge faßt:



Dioxyphenylalanin



Adrenalin

[1]) Torquati, Ch. C. **1913**. II. 517; Guggenheim, Zeitschr. f. physiol. Chemie **88**, 276. 1913.

Die Art und Weise, wie das Adrenalin im Tierorganismus entsteht, ist zwar noch nicht aufgeklärt und man muß auf allerlei Schwierigkeiten gefaßt sein. Ungünstig zur Erforschung ist sowohl die hochgradige Labilität des Brenzcatechinderivates als seine schwere Zugänglichkeit.

Zwei Jahre bevor das optisch aktive Dioxyphenylalanin in Vicia faba angetroffen war, war C. Funk[1]) die Synthese des dl-3,4-Dioxyphenylalanins mit der Methode von Erlenmeyer und Halsey aus 3,4-Carbonyldioxybenzaldehyd gelungen. Bei dieser Methode war das Ausgangsmaterial ziemlich schwer zugänglich: daher haben C. Fromherz und L. Hermans[2]) bereits leicht erhaltbaren Aldehyd, nämlich Vanillin, als Ausgangsmaterial gewählt. C. Funk kondensierte das 3,4-Carbonyldioxybenzaldehyd mit Hippursäure und gewann über die α-Benzoylamino-3,4-dioxyzimtsäure durch Behandlung mit Natronlauge die α-Benzoylamino-3,4-dioxyzimtsäure. Diese Säure wurde durch Reduktion mit Natriumamalgam in d,l-α-Benzoylamino-3,4-dioxy-β-phenylpropionsäure übergeführt, die durch Einwirkung von Salzsäure schließlich d,l-3,4-Dioxyphenylalanin lieferte. Prinzipiell ist die Methode von C. Fromherz und L. Hermans dieselbe wie die von Funk, nur benutzt sie Vanillin als Ausgangsmaterial. Diesen Aldehyd kondensierten sie gleichfalls mit Hippursäure und bekamen nach Spaltung des entstandenen „Azlaktons" mittels Natronlauge p-Oxy-m-methoxybenzoylaminozimtsäure, die durch nachfolgende Behandlung mit Natriumamalgam zu p-Oxy-m-methoxybenzoylphenylalanin reduziert wurde. Das d,l-3,4-Dioxyphenylalanin wurde schließlich durch Abspaltung das Benzoylrestes und der Methylgruppe durch Jodwasserstoffsäure gewonnen. In beiden Fällen kommt man erst über 2—3 Zwischenprodukte zur verlangten Aminosäure, und die Ausbeute läßt viel zu wünschen übrig.

Nachdem Takaoki Sasaki[3]) geglückt war, manche physiologisch-chemisch sehr wichtigen Aminopropionsäuren mit verschiedenen Kernen, z. B. Tyrosin, Phenylalanin usw., aus Glycin-

---

[1]) C. Funk, Journ. of. chem. Soc. London **99**, 554. 1911.

[2]) C. Fromherz und L. Hermans, Zeitschr. f. physiol. Chemie **91**, 194. 1914.

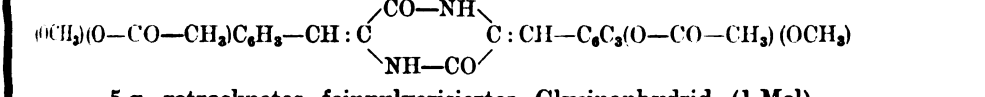
[3]) T. Sasaki, am 14. X. 1919 in der Sitzung der Chemischen Gesellschaft zu Tokio mitgeteilt.

anhydrid und Aldehyd zu synthetisieren, hat er mich veranlaßt, das Dioxyphenylalanin durch Umsetzung von Vanillin und Glycinanhydrid gemäß seiner Methode darzustellen. Beim Arbeiten mit Vanillin verlief die ganze Operation sehr glatt, und ich konnte Dioxyphenylalanin leicht darstellen. Die Ausbeute war dabei ganz gut. Das Glycinanhydrid ist heute dank der direkten Zugänglichkeit vom Glykokollesterchlorhydrat aus leicht zugänglich und die neue Synthese wohl empfehlenswert.

Was die biologische Anwendbarkeit der Substanz anbetrifft, so hat Bloch[1]) die leichte Oxydierbarkeit derselben dazu benutzt, diese Aminosäure unter dem Namen Dopareaktion als ein Mittel zum Oxydasenachweis zu verwenden.

Experimenteller Teil.

1. Di-3-acetoxy-4-methoxybenzalglycinanhydrid.



5 g getrocknetes feinpulverisiertes Glycinanhydrid (1 Mol) wurden mit 16,6 g Vanillin (2,5 Mol) unter Zusatz von 14,3 g wasserfreiem Natriumacetat (4 Mol) und 22,3 g Essigsäureanhydrid (5 Mol) in einem Rundkolben von ca. 300 ccm Inhalt im Ölbad $6^1/_2$ Stunden lang auf 160—170° C erhitzt. Das gelblich gefärbte Reaktionsgemisch wurde zuerst mit heißem Wasser und danach mit Alkohol digeriert. Nach dem Abnutschen und Waschen mit Wasser und Alkohol bekam ich eine blaßgelbe krystallinische Substanz, die nach Trocknung im Vakuumexsiccator über Chlorcalcium 16,2 g wog. Die Ausbeute war recht befriedigend und entsprach 79,2% der Theorie. Die gewonnene Substanz war schwer löslich in Wasser sowie gewöhnlichen organischen Lösungsmitteln und etwas löslich in heißem Eisessig. Die Substanz war schon fast rein und ließ sich zur Synthese ohne weiteres verwenden. Zur Analyse erhielt ich nach Umkrystallisieren aus siedendem Eisessig schwach gelblich gefärbte Krystalle, die keinen Schmelzpunkt unter 280° C hatten.

0,1604 g Subst.	$^n/_{10}NH_3$ 6,95
$C_{24}H_{22}O_8N_2$	Ber. Gef.
N	6,00 6,07

[1]) Bloch, Zeitschr. f. physiol. Chemie **98**, 1916. Zit. Aschoff, Lehrbuch d. Pathol. 1919. Allg. Teil. S. 456.

2. dl-3,4-Dioxyphenylalanin.

4,1 g Kondensationsprodukt, 18 ccm Jodwasserstoffsäure (D 1,7) und 2 g roter Phosphor wurden am Rückflußkühler 8 Stunden lang gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde vom roten Phosphor abfiltriert und nach dem Ansäuren durch Essigsäure mit 20 proz. Bleiacetat versetzt. Dabei entstandenes Bleijodid wurde durch Abnutschen und Waschen mit Wasser abgetrennt und das klare farblose Filtrat mit Ammoniak versetzt, um die Bleiverbindung des Dioxyphenylalanins auszufällen. Das Bleisalz wurde in wenig Wasser suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zerlegt, der durch Kohlendioxyd verdrängt wurde, und das wasserklare Filtrat von Bleisulfid nach dem Versetzen mit wenig schwefliger Säure schnell unter vermindertem Druck und unter Wasserstoffeinleitung stark eingeengt. Der Rückstand wurde mit möglichst wenig Wasser aufgenommen und abgenutscht. Er wog 2,2 g nach dem Trocknen im Vakuumexsiccator über Chlorcalcium. Ausbeute: 64,7% der Theorie. Zur Analyse reinigte ich die Krystalle durch Umkrystallisieren aus Wasser.

0,1775 g Subst.	$^n/_{10}$-NH_3 8,9	
0,1266 g Subst.	CO_2 0,2526	H_2O 0,0690
$C_9H_{11}O_4H$	Ber.	Gef.
C	54,80	54,43
H	5,62	6,10
N	7,10	7,03

Die Krystalle schmolzen bei 271—272° C (unkorr.) unter Gasentwicklung und zeigten schöne grüne Färbung auf Zusatz von Eisenchloridlösung.

Über die Bildung von p-Oxyphenylessigsäure und p-Oxyphenylacrylsäure aus l-Tyrosin durch Bakterien.

Von

Kinsaburo Hirai.

(Aus dem Sasaki-Laboratorium im Kyoundo-Hospital zu Tokio.)

(Eingegangen am 22. November 1920.)

Man hat sich vielfach bemüht, die Bedingungen für die so komplizierten Vorgänge bei der Eiweißfäulnis möglichst zu vereinfachen und damit den Chemismus der Fäulnis ins rechte Licht zu rücken. Dazu hat man allerlei Versuche angestellt, die Aminosäuren durch verschiedene Bakterien abbauen zu lassen. Eine Anzahl von Untersuchungen in dieser Richtung hat zahlreiche interessante Resultate ergeben. Wer sich einmal mit diesem Problem beschäftigt hat, dem ist sicherlich die Unannehmlichkeit begegnet, daß man nicht mit Sicherheit stets gleichbleibende Ergebnisse hat. Das geht auch aus derLiteratur hervor. Bei der Nachprüfung eines Versuches über die bakteriellen Abbauprodukte der Aminosäuren bekommt man nicht immer dieselben Resultate wie der Vorgänger; ein und derselbe Forscher kann bei einer bestimmten Versuchsanordnung nicht immer dasselbe Abbauprodukt gewinnen. Dieser Umstand stört sehr das Studium der Eiweißfäulnisprodukte. Zwar haben gewisse Versuchsanordnungen zum Abbau bestimmter Aminosäuren durch bestimmte Bakterien diesen Übelstand verringert; doch kann man auch dabei nicht immer dasselbe Abbauprodukt erwarten, da der Bakterienstamm auf den Veríauf des Abbaus einen großen Einfluß hat. So habe ich früher gefunden[1]), daß aus l-Tyrosin mit einem bestimmten Stamm des Bac. lactis aerogenes Oxyphenyläthylalkohol und mit einem anderen Stamm gar nichts zu isolieren ist, während T. Sasaki[2]) mit einem dritten Stamm Oxyphenyläthyl-

[1]) K. Hirai, Acta scholae med. universitatis imper. in Kyoto **2**, 425. 1918.

[2]) T. Sasaki, Ebenda **1**, 102. 1916.

amin gewinnen konnte. Auch für Bac. proteus vulgaris wurde wiederholt beobachtet, daß ein Stamm von Proteus vulgaris vorwiegend Amin und ein anderer dagegen Oxysäure aus l-Tyrosin bildet. Daher muß man bei der Nachprüfung und Kritik der Arbeiten anderer Experimentatoren vorsichtig sein. Es ist also wichtig, möglichst verschiedene Stämme von Bakterium anzuwenden. Man kann nichts Sicheres über das Resultat des Abbauversuches sagen, wenn der Versuch nur mit einem Stamm ausgeführt ist.

Außer dem Bakterienstamm spielt das Nährmedium bekanntlich eine große Rolle hinsichtlich des Fäulnisprodukts; hierüber sagt A. Ellinger[1]): „Aber selbst die gleiche Bakterienart kann in ihrer Enzymproduktion qualitativ und quantitativ verschiedenes Verhalten je nach der Art des Nährsubstrats zeigen ... Manche Widersprüche in der Literatur lassen sich vielleicht auf die hier angedeuteten Bedingungen der Enzymproduktion zurückführen." Im besonderen hat C. Neuberg[2]) gezeigt, daß organische Zusätze zur Kulturflüssigkeit, wie Zucker oder Pepton, von wesentlichem Einfluß sein können. Diesbezüglich hat T. Sasaki[3]) eine wichtige Bedingung für Fäulnisversuche von Aminosäuren gefunden. Er berichtet, daß er aus einer mit der Hendersonschen Phosphatmischung versetzten Nährlösung d-p-Oxyphenylmilchsäure und aus einer mit dem Milchzucker versetzten Nährlösung Tyramin als Fäulnisprodukt von l-Tyrosin durch Bac. proteus vulgaris isolieren konnte. Diese Tatsache beweist klar, wie bedeutend das Nährmedium selbst die Natur der Fäulnisprodukte beeinflussen kann. Auf seine Beobachtung mich stützend, verfuhr ich neuerdings etwas anders, indem ich einerseits Ringersche Lösung, andererseits die erwähnte Kulturflüssigkeit als Nährmedium anwandte. Trotz des Zusatzes einer Emulsion vom selben Stamm Proteus vulgaris, der sich bei wiederholten Versuchen als Bildner von p-Oxyphenylmilchsäure aus l-Tyrosin erwies, konnte ich im Fall der gewöhnlichen Nährlösung p-Oxyphenylmilchsäure und im Fall der Ringerschen Lösung lediglich p-Oxyphenylessigsäure isolieren. Sicherheitshalber wiederholte ich die Versuche mit der Ringerschen Lösung als Nährmedium einige

[1]) A. Ellinger, Ergebnisse der Physiologie **6**, 40.
[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **37**, 500. 1911.
[3]) T. Sasaki, Journ. of Biolog. Chem. **32**, 527. 1917.

Male, aber ich bekam stets ohne Ausnahme fast dieselben Mengen an p-Oxyphenylessigsäure. Für diese aromatische Säure haben verschiedene Forscher eine Entstehung aus Eiweiß und ein Vorkommen im jauchigen Exsudat angegeben. So haben E. und H. Salkowski diese Säure aus Fäulnisprodukten von Wolle[1]) und Serumalbumin[2]), ferner Brieger[3]) aus jauchigem Pleuraexsudat gewonnen; Baumann[4]),[5]) konnte sie aus Menschenharn isolieren. Wie kommt das, daß bald p-Oxyphenylmilchsäure, bald p-Oxyphenylessigsäure aus l-Tyrosin durch Proteus vulgaris je nach dem Nährmedium gebildet wird? Um dieser Frage näher zu kommen, stellte ich verschiedene Versuche an und fand als ganz interessante Tatsache, daß das angewendete Glycerin schuld an diesem Ergebnis war. Deshalb stellte ich Parallelversuche einerseits mit l-Tyrosin und Proteus vulgaris in eiweißfreier Nährlösung plus Hendersonscher Phosphatmischung, andererseits mit derselben Aminosäure und derselben Bakterienemulsion in demselben Nährmedium, aber unter Fortlassung von Glycerin an und konnte dabei im ersten Fall p-Oxyphenylmilchsäure, im letzteren p-Oxyphenylessigsäure isolieren. Eben diese Kleinigkeit, die Gegenwart von Glycerin, beeinflußt so bedeutend das Fäulnisprodukt der Aminosäure. Diese Erkenntnis kann vielleicht helfen, physiologische sowie pathologisch-chemische Fragen aufzuklären, welche gewisse Beziehungen zu den vorerwähntzn Erscheinungen haben. Durch Änderungen des Mediums bei Fermentwirkungen sowie bei Fäulnisansätzen kann man vielleicht neue Zersetzungsprodukte auffinden.

Ferner spielt auch die Dauer der Einwirkung der Bakterien auf die Aminosäure eine große Rolle. Wie Baumann[6]) festgestellt hat, geht das Tyrosin in p-Oxyphenylpropionsäure[7]) und diese weiter in p-Oxyphenylessigsäure[8]) durch die Einwirkung von faulendem Pankreas über. Man kann wohl erwarten, daß die

[1]) E. und H. Salkowski, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **12**, 648. 1879.
[2]) E. und H. Salkowski, Ebenda **13**, 189. 1880.
[3]) Brieger, Zeitschr. f. physiol. Chemie **5**, 366. 1881.
[4]) Baumann, Ebenda **4**, 304. 1880.
[5]) Baumann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **13**, 279. 1880.
[6]) Baumann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **12**, 1452. 1879; **13**, 279. 880.
[7]) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chemie **4**, 304. 1880.
[8]) Raistrick, Biochemical Journ. **11**, 71—77. 1917.

Hydroparacumarsäure bei kurzdauernder Fäulnis und p-Oxyphenylessigsäure bei einer langdauernden isoliert wird. So habe ich aus l-Tyrosin unter sonst ganz gleichen Bedingungen einmal p-Oxyphenylessigsäure, ein anderes Mal p-Oxyphenylacrylsäure isoliert, und zwar die letztere gerade zu der Zeit, wo l-Tyrosin ganz in Lösung ging. Es scheint mir sehr wahrscheinlich, daß diese Zeitperiode sich je nach der Frische der Bakterienstämme verschieden verhält. Das erstemal geht das Tyrosin nach ca. 1 Woche vollständig in Lösung, das zweite und drittemal nach 10 resp. 12 Tagen. Ich konnte beinahe 1 g p-Cumarsäure nach 12tägiger Fäulnis und gegen 0,9 g p-Oxyphenylessigsäure nach 40 Tage langem Aufenthalt im Brutschrank von 37° C aus 10 g l-Tyrosin isolieren. Somit ist es wohl berechtigt anzunehmen, daß die p-Oxyphenylacrylsäure durch Proteus vulgaris zu p-Oxyphenylessigsäure oxydiert wird. Die Lehrbücher geben als einen Modus des Fäulnisvorgangs von l-Tyrosin an, daß sich dasselbe über p-Oxyphenylpropionsäure und p-Oxyphenylessigsäure zu p-Kresol zersetzt. M. E. ist noch ein anderer Vorgang möglich, nämlich, daß p-Oxyphenylessigsäure aus l-Tyrosin über p-Oxyphenylacrylsäure entsteht. Raistrick[1]) hat schon die Imidazolylacrylsäure aus Histidin durch Einwirkung von Bakterien der Coligruppe in Ringerscher Lösung isoliert. Der Versuch, die Phenylessigsäure und p-Methoxyphenylessigsäure aus Zimtsäure resp. p-Methoxyzimtsäure durch Proteus vulgaris in Ringerscher Lösung zu gewinnen, gelang mir nicht, so daß ich die betreffende Säure nach 40tägigem Verweilen im Thermostaten unverändert und fast quantitativ zurückgewinnen konnte. Es ist schon durch obenerwähnte Versuche klargestellt, daß der Abbauprozeß mit Proteus vulgaris in Ringerscher Lösung weitergeht, als in der Lösung mit Glycerin und Hendersonscher Phosphatmischung. Daher unternahm ich den Versuch, p-Oxyphenylmilchsäure, die durch Proteus vulgaris aus l-Tyrosin in der Nährlösung mit Glycerin und Hendersonscher Phosphatmischung gebildet wird, in Ringerscher Lösung durch Proteus vulgaris weiter abzubauen. Aber das Resultat war ganz entgegen der Erwartung negativ, und die zum Versuch angewandte p-Oxyphenylmilchsäure wurde wiederum fast quantitativ zurückerhalten.

---

[1]) Raistrick, Biochemical Journ. **11**, 71—77. 1917.

Experimenteller Teil.

Versuch 1.

Der Stamm von Proteus vulgaris, den ich diesmal zu meinem Versuche anwandte, war derjenige, der in unserem Laboratorium aus gefaultem Pankreas isoliert wurde und sich als p-Oxyphenylmilchsäurebildner aus l-Tyrosin erwies. Die Ringersche Lösung war die für Froschherz bei physiologischen Experimenten angewandte, und zwar enthielt sie folgende Bestandteile[1]):

Natr. bicarbon.	0,1 g
Calc. chloric.	0,1 „
Kali. chloric.	0,075 g
Natr. chloric.	6,0 g
Aq. dest.	1000 ccm

Der Versuch wurde im großen und ganzen wie der von T. Sasaki[2]) ausgeführt: 800 ccm Ringersche Lösung befanden sich in einem samt Wattepfropfen vorher trocken sterilisierten Kolben, darin wurde 2 g l-Tyrosin aus Seide suspendiert; nach Dampfsterilisation im Kochschen Topfe und Erkalten wurde der Flüssigkeit die Bakterienemulsion aus 5 Agarkulturen von Proteus vulgaris zugesetzt und 40 Tage lang im Brutschrank bei 37° C aufbewahrt. Ich verarbeitete 5 Kolben, also 10 g Tyrosin auf einmal. Während dieser Zeit schwenkte ich einmal täglich den Kolben sanft um, wodurch ich die Reaktion förderte. Am 8. Tag ging das Tyrosin fast vollkommen in Lösung. Nach der Beendigung dieser Periode und nach der Konstatierung der bakteriologischen Reinheit vereinigte ich den Inhalt von 5 Kolben und dampfte auf dem Wasserbade bei salzsaurer Reaktion ab. Den Rückstand extrahierte ich wiederholt mit heißem Alkohol, bis das Filtrat nicht mehr die Millonsche Reaktion zeigte. Den alkoholischen Extrakt dampfte ich ab und nahm den teerschwarzen Rückstand von neuem mit möglichst wenig Alkohol auf, setzte nachträglich viel Wasser zu und extrahierte ca. 20 Stunden lang mit Äther bei salzsaurer Reaktion im Kumagawa-Sutoschen Flüssigkeitsextraktor. Von dem dunkelbräunlichen Ätherauszuge wurde das Lösungsmittel nach Entwässerung mit trockenem Natriumsulfat abdestilliert. Der Rückstand erstarrte zu einem dicken Krystallbrei bei dem Stehenlassen im Eisschrank und wog

[1]) Starling, Human physiology **2**, 963.

[2]) T. Sasaki, diese Zeitschr. **59**, 429. 1914.

1,8 g nach Aufstreichen auf eine Tonplatte. Nach zweimaligem Umkrystallisieren der zunächst dunkelbraun gefärbten Substanz aus heißem Wasser unter Zusatz der Tierkohle und nachheriger starker Einengung auf dem Wasserbade erhielt ich schöne, bei 148—149° C schmelzende, lange, Millonsche Reaktion gebende Krystallnadeln (0,9 g). Zur Analyse löste ich nochmals in wenig Wasser auf und extrahierte mit Äther unter Zusatz von wenig verdünnter Schwefelsäure. Aus dem Ätherauszug konnte ich 0,6 g reine Krystalle erhalten. Die Substanz wurde bei 100° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet:

0,1511 g Subst.	0,3495 CO_2	0,0694 H_2O
$C_8H_8O_3$	Ber.	Gef.
C	63,14	63,09
H	5,30	5,13

So unterliegt es keinem Zweifel mehr, daß die Substanz p-Oxyphenylessigsäure ist. Ich wiederholte denselben Versuch nochmals auf ganz dieselbe Weise. Diesmal arbeitete ich mit 4 Kolben und je 2 g Tyrosin, also mit 8 g Tyrosin. Nach der obenerwähnten Behandlung konnte ich 0,4 g bei 149° C schmelzende Krystallnadeln von p-Oxyphenylessigsäure isolieren.

Versuch 2.

In der Nährlösung ohne Glycerin schied sich das bei der Dampfsterilisation in Lösung gegangene Tyrosin nach dem Erkalten leicht wieder aus, und dieses Tyrosin ging nach 1—2 Wochen unter der Einwirkung von Proteus vulgaris allmählich wieder in Lösung. Ich beabsichtigte diesmal den Versuch in dem Zeitpunkt, in dem alles Tyrosin sich in der Lösung befand, abzubrechen, um die zeitlichen Verhältnisse bei der Bildung der Abbauprodukte zu studieren. Dazu stellte ich 10 Kolben, ganz wie bei Versuch 1, in einen Brutschrank von 37° C. 5 Kolben davon nahm ich am 12. Tage, wo Tyrosin in Lösung gegangen ist, aus dem Brutschrank, während ich die anderen 5 Kolben 40 Tage lang im Brutofen beließ. Den Inhalt der ersten 5 Kolben vereinigte ich nach Feststellung der bakteriologischen Reinheit. Die vereinigte Lösung wurde unter vermindertem Druck bis zur Trockne stark eingeengt und der Rückstand wiederholt mit heißem Alkohol erschöpfend extrahiert, bis das Filtrat nicht mehr Millonsche Reaktion gab. Der alkalische Auszug wurde unter vermindertem Druck abdestil-

liert und der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen. Die so erhaltene Lösung, die deutlich sauer gegen Lackmuspapier reagierte und positive Millonsche Probe zeigte, unterwarf ich der Ätherextraktion im Kumagawa-Sutoschen Flüssigkeitsextraktor nach dem Zusatz, von 25 ccm 20 proz. Phosphorsäure. Von dem durch Extraktion in den ersten 24 Stunden gewonnenen klaren bräunlichgelb verfärbten Auszuge wurde der Äther abdestilliert, der Rückstand in heißem Wasser gelöst und mit Tierkohle behandelt, worauf das klare gelbliche Filtrat stark auf dem Wasserbad eingeengt ward. Der Rückstand erstarrte nach Abdampfung zu einem dicken Brei bei Aufbewahrung über Nacht im Eisschrank; die Krystallmasse wog 1,1 g nach scharfer Abnutschung sowie sorgfältigem Waschen mit kaltem Wasser. Die Krystalle hatten den Schmelzpunkt von 205—206° C und gaben Millonsche Reaktion in der Wärme, waren ziemlich leicht in heißem, schwer in kaltem Wasser löslich und entfärbten in alkalischer wässeriger Lösung Kaliumpermanganatlösung sofort. Zur Analyse wurde die Substanz durch erneuerte Ätherextraktion gereinigt und bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet:

0,0992 g Subst.	0,2386 CO_2	0,0435 H_2O
$C_9H_8O_3$	Ber.	Gef.
C	65,83	65,61
H	4,91	4,91

Mithin besteht kein Zweifel, daß die Substanz identisch mit p-Oxyphenylacrylsäure ist.

Den Inhalt der übrigen 5 Kolben, die 40 Tage lang im Brutschrank belassen waren, vereinigte ich nach der bakteriologischen Kontrolle und behandelte ihn ganz wie zuvor. Die wässerige Lösung war schwärzlich und zeigte ein ganz anderes Aussehen als im ersten Falle. Ebenso intensiv schwarz verfärbt war der Ätherauszug aus der phosphorsauren wässerigen Lösung. Nach dem Abdestillieren des Äthers und Stehenlassen im Eisschrank bekam ich schöne Krystalle, die auf der Tonplatte abgesogen wurden. Durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser unter Zusatz der Tierkohle gewann ich endlich bei 148° C schmelzende Krystallnadeln, die die Millonsche Reaktion gaben; die Ausbeute betrug 0,8 g. Es war keine Depression des Schmelzpunktes bei der Mischprobe mit p-Oxyphenylessigsäure zu konstatieren. Die Substanz wurde durch Ätherextraktion bei saurer Reaktion von etwas an-

haftender Kohle befreit und bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet:

0,1732 g Subst.	0,3991 CO_2	0,0795 H_2O
$C_8H_8O_3$	Ber.	Gef.
C	63,14	62,86
H	5,30	5,13

In beiden Fällen war fast alles Tyrosin aufgezehrt, so daß ich diese Aminosäure aus dem Rückstande der Alkoholextraktion nicht zurückgewinnen konnte. Es ist somit wohl berechtigt anzunehmen, daß es durch Fäulnis aus l-Tyrosin zuerst p-Cumarsäure durch Desamination und dann p-Oxyphenylessigsäure durch Oxydation entsteht. Damit stimmen auch die Mengenverhältnisse ziemlich gut überein, da in beiden Vergleichsproben 1,1 g p-Oxyphenylacrylsäure und 0,8 g p-Oxyphenylessigsäure aus je 5 g Tyrosin isoliert wurden.

Versuch 3.

Zu den bisher erwähnten Versuchen diente immer derselbe Stamm von Proteus vulgaris, der in der Nährlösung von 5 g Natriumchlorid, 2 g Monokaliumphosphat, 0,1 g Magnesiumsulfat, 1 g Ammoniumcarbonat und 20 ccm Glycerin auf 1000 ccm Wasser[1]) ausnahmslos p-Oxyphenylmilchsäure aus l-Tyrosin bildet. Diese Form des Abbaus wird bedeutend vervollständigt, wenn man der Nährlösung die Hendersonsche Phosphatmischung zusetzte, um eine Anhäufung von H-Ionen zu verhindern[2]). Wenn man aber sich der Ringerschen Lösung statt der obenerwähnten Mischung als Nährlösung bedient, so verläuft diese Reaktion etwas anders, indem man dabei statt der aromatischen α-Oxysäure p-Oxyphenylessigsäure oder p-Oxyphenalacrylsäure erhält. Die wesentliche Verschiedenheit, die zwischen diesen beiden Nährlösungen besteht, liegt in der Gegenwart von Glycerin in einer der Flüssigkeiten. Sonst sind sie nur nach Menge und Art der anorganischen Salze verschieden.

Zwecks Prüfung der Rolle, die das Glycerin dabei spielt, führte ich 2 Reihen von Versuchen mit je 2 Kolben von Nährlösungen aus, das eine Paar mit Glycerin (20 g Glycerin : 1000 ccm Nährlösung), das andere Paar ohne dasselbe. Die Nährlösung

[1]) T. Sasaki, diese Zeitschr. **59**, 432. 1914.

[2]) T. Sasaki, Journ. of Biolog. Chem. **32**, 527. 1917.

bestand aus 5 g Natriumchlorid, 2 g Monokaliumphosphat, 0,1 g Magnesiumsulfat, 1 g Ammoniumcarbonat und 1000 ccm Wasser. Nach der Vermischung von 643 ccm Nährlösung und 166 ccm Hendersonscher Phosphatmischung setzte ich 0,5 g frisch gefälltes Uranylphosphat und 2 g l-Tyrosin aus Seide zu. In jeden Kolben, der vorher im Kochschen Dampftopfe sterilisiert und mit der glycerinhaltigen bzw. -freien Nährlösung versehen war, setzte ich die Suspension aus 5 schiefen Agarkulturen von Proteus vulgaris, in ganz kleiner Menge von sterilisierter Nährlösung aufgenommen, hinzu. Alle 4 Kolben wurden 40 Tage lang im Brutschrank bei 37° C stehengelassen. Nach Ablauf dieser Zeit kontrollierte ich die bakteriologische Reinheit, vereinigte den Inhalt von je 2 Kolben und arbeitete ganz wie bei Versuch 2 auf. Nach Einengung unter vermindertem Druck, Extraktion mit Alkohol, Abdestillieren des Alkohols und Aufnehmen mit wenig Wasser zog ich sodann die mit Phosphorsäure angesäuerte wässerige Lösung mit Äther aus. Aus dem Ätherextrakte vom Versuch mit Glycerin gewann ich nach dem Abdestillieren des Äthers und einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser nadelförmige, atlasglänzende, bei 168—169° C schmelzende Millonsche Reaktion gebende Krystalle (0,7 g), während in der anderen Versuchsreihe, in welcher kein Glycerin der Nährlösung zugesetzt war, nach derselben Behandlung bei 148° C schmelzende, gleichfalls Millonsche Reaktion gebende Krystallnadeln (0,1 g) isolierte. In bezug auf Schmelzpunkt stimmten die erste Substanz mit p-Oxyphenylmilchsäure und die zweite mit p-Oxyphenylessigsäure gut überein; es trat keine Erniedrigung des Schmelzpunkts bei der Mischprobe mit p-Oxyphenylmilchsäure bzw. mit p-Oxyphenylessigsäure auf.

Versuch 4.

Man sollte somit wohl per analogiam annehmen können, daß die Acrylsäuren mit anderem aromatischen Kern als Phenol in Ringerscher Lösung durch Proteus vulgaris zu entsprechenden Essigsäuren weiter oxydiert würden. Aber diese Voraussetzung konnte ich experimentell nicht beweisen, als ich mit p-Methoxyzimtsäure und Zimtsäure Versuche ausführte. Jeder Kolben mit 800 ccm Ringerscher Lösung und 2 g von obenerwähnten Säuren wurde sterilisiert und nach dem Erkalten mit der Bakterienemulsion von 5 schiefen Agarkulturen versetzt. Je 4 Kolben mit einer

von beiden Säuren ließ ich 45 Tage lang im Brutschrank bei 37 ° C stehen. Nach Prüfung der bakteriologischen Reinheit vereinigte ich den Inhalt von 4 Kolben mit derselben Säure und engte ihn unter vermindertem Druck stark ein. Den sirupösen Rückstand extrahierte ich wiederholt mit heißem Alkohol, und von diesem Alkoholextrakt destillierte ich den Sprit unter vermindertem Druck ab. Dann nahm ich den Destillationsrückstand mit viel Wasser auf und bekam nach der Ansäuerung mit verdünnter Schwefelsäure einen reichlichen, farblosen Niederschlag. Diese Niederschläge wogen 5,6 bzw. 7,2 g im Fall der p-Methoxyzimtsäure resp. Zimtsäure nach Abnutschen, Waschen und Trocknen, und zeigten ganz dieselben Schmelzpunkte wie das Ausgangsmaterial. Bei der Ätherextraktion des Filtrates der mit Schwefelsäure angesäuerten Flüssigkeit konnte ich nichts isolieren; es wurden 5,6 und 7,2 g von 8 g p-Methoxyzimtsäure resp. Zimtsäure unverändert wieder gewonnen. Ebenso unangegriffen blieb die p-Oxyphenylmilchsäure, als ich dieselbe Säure in Ringerscher Lösung mit Proteus vulgaris 45 Tage lang im Brutschrank bei 37 ° C digerierte. In diesem Fall arbeitete ich mit 8 g d-p-Oxyphenylmilchsäure, die ich nach der vorerwähnten Behandlungsweise fast quantitativ (7,5 g) zurückzuerhalten vermochte.

Über den Einfluß verschiedener Metallsalze auf die Bildung bakterieller Abbauprodukte von Aminosäuren.

Von

Ichiro Otsuka.

(Aus dem Sasaki-Laboratorium im Kyoundo-Hospital zu Tokio.)

(Eingegangen am 22. November 1920.)

Je höher ein lebendes Wesen organisiert ist, um so ausgeprägter zeigen seine einzelnen Zellen bezüglich ihrer Funktion eine fein eingestellte Spezifität. Vegetation, Verdauung, Assimilation und Dissimilation, sowohl äußere als auch innere Sekretion usw. wurden somit durch besondere Zellenarten im Gang gehalten. Demgegenüber sind niedrige Organismen genötigt, mit ihren morphologisch ganz einfachen Einrichtungen ihren gesamten Lebensprozeß zu vollbringen. Sie betreiben also ihre ganze Haushaltung in einem winzig kleinen Arbeitsraum, in welchem für ihre sämtlichen Lebensbedürfnisse sehr komplizierte Utensilien in dichter Zusammendrängung angeordnet sind. In diesem Sinne ist das einzellige Wesen trotz seinem einfachsten Aussehen eigentlich am kompliziertesten gebaut.

Einzellige Mikroorganismen beherbergen mannigfaltige Werkzeuge, insbesondere verschiedenartige Enzyme, dicht nebeneinander in ihren winzigen Leibern. Zur Zeit sind wir kaum imstande, die einzelnen Enzyme zu trennen und isoliert zu untersuchen. Wir sind somit heutzutage gezwungen, mit komplizierten Gemischen zu arbeiten.

Alle einzelnen Enzyme beanspruchen aber für sich optimale Bedingungen, um ihre volle Wirkung entfalten zu können. Diese Bedingungen können so extrem verschieden sein, daß eine für ein Enzym optimale Bedingung auf ein anderes angewandt höchst

ungünstig und direkt paralysierend wirkt. So z. B. ist die Reaktion des Mediums, d. h. die Konzentration von H- und OH-Ionen, die Gegenwart von Aktivatoren oder Paralysatoren, die Temperaturgrade bei den verschiedenen Enzymarten ganz ungleich. Pepsin[1]) vermag bekanntlich nur bei saurer Reaktion seine volle Wirkung zu entfalten, während Säure Laccase[2]) stark schädigen kann. Daß Metallverbindungen als Katalysatoren oder Aktivatorwirken können, ist ja eine bekannte Tatsache, so z. B. Calciumschlorid für Pankreasenzyme[3]), Mangansalze für Laccase[4]). Mischt man bei der Einwirkung der Bakterien resp. Bakterienenzyme noch einen Katalysator oder einen Aktivator resp. Ko-Enzym bei, so ist von vornherein zu erwarten, daß die Reaktionsprodukte je nach dem Aktivator in mannigfacher Weise beeinflußt werden. Ein bestimmtes Metallsalz könnte somit besonders eine Enzymwirkung befördern, während es eine andere Enzymwirkung derselben Bakterien gar nicht oder in weit geringerem Grade, eventuell sogar hemmend zu beeinflussen vermag. Dadurch werden die Reaktionsprodukte experimentell mehr oder weniger willkürlich verändert.

Diese Idee hat uns veranlaßt, den Einfluß von verschiedenen Metallsalzen auf die bakteriellen Abbauprodukte mit Aminosäuren zu studieren. Prof. Takaoki Sasaki[5]), welcher mir diese Aufgabe übertrug, erwähnte schon, daß, wenn man bei bakterieller Spaltung des l-Tyrosins frisch gefälltes Uranylphosphat der Nährlösung beifügt, die Ausbeute der d-p-Oxyphenylmilchsäure und des p-Oxyphenyläthylamins dadurch eine bedeutend bessere wird. Ich prüfte deshalb unter sonst ganz denselben Bedingungen, nur unter Variation der Metallsalze, die Veränderung, welche nach Qualität und Quantität die beim Abbau des Tyrosins durch Proteusbacillen auftretenden Produkte zeigen.

Zu der Nährlösung setzte ich einerseits die sog. Hendersonsche Phosphatmischung, andererseits Milchzucker zu. Was die Metall-

---

[1]) Vgl. C. Oppenheimer, Die Fermente **2**, 530. 1913.

[2]) Bertrand, Ann. de l'inst. Pasteur **21**, 673. 1907; zit. nach H. Euler, Allg. Chemie d. Enzyme **159**. 1910.

[3]) C. Delezenne, Compt rend. de la soc. de biol. **59**. 476. 1905.

[4]) G. Bertrand, Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **124**. 1032. 1897; zit. nach Chem. Centralblatt **2**, 47. 1897.

[5]) T. Sasaki, Journ. of Biol. Chem. **32** (III), 527. 1917.

salze anbetrifft, benutzte ich Ferrosulfat und verschiedene in Wasser schwer lösliche Phosphate. Um einen Einfluß auf die Bakterienentwicklung möglichst zu vermeiden, bevorzugte ich die in Wasser schwer löslichen Salze.

Beim Zusatz solcher Metallsalze zur Hendersonschen Phosphatmischung enthaltenden Nährlösung gelang es mir, d-p-Oxyphenylmilchsäure aus l-Tyrosin durch die Proteusbacillen in großer Ausbeute zu isolieren. Von den Salzen übte Aluminiumphosphat auf die Bildung dieser Oxysäure den besten Einfluß aus. Bei Anwesenheit von Milchzucker in der einfachen Nährlösung konnte ich für die einzelnen Metallsalze keinen besonderen Einfluß auf die Bildung der d-p-Oxyphenylmilchsäure konstatieren. Nur der Versuch mit Quecksilberoxydphosphat brachte mir ein auffallendes Ergebnis; ich fand dabei p-Oxyphenylessigsäure.

Bei allen Versuchen ist die Löslichkeit der Salze und ihre Einwirkung auf die Bakterienentwicklung vorläufig nicht berücksichtigt. Unser Zweck war nicht eine diesbezügliche vergleichende Prüfung der Metallsalze in theoretischer Hinsicht, sondern er bestand in der Beantwortung der praktischen Aufgabe, welches Salz auf die bakterielle Umbildung der verwendeten Aminosäure zur entsprechenden Oxysäure den besten Einfluß ausübt. Bezüglich des Punktes, ob bei meinem Versuche das Metallsalz als Aktivator eines bestimmten Enzyms wirkt oder eine sog. gekoppelte Reaktion katalytisch befördert, steht die Erklärung noch aus.

Bei der Untersuchung haben wir auch die Erfahrung gemacht, daß die aminbildende Funktion der Bakterien (Decarboxylierung von Aminosäuren) ziemlich rasch mit Fortzüchtungen des Bakterienstammes verlorengeht; auf vergleichende Untersuchung der Aminbildung in Metallsalzgegenwart, wozu lange Versuchszeiten erforderlich sind, verzichtete ich daher. Ein Bakterienstamm, der im wilden resp. frisch isolierten Zustande ganz ausgeprägt aminbildende Eigenschaft unter der obengenannten Bedingung zeigte, büßt diese Häufigkeit schon nach einigen Monaten trotz vorsichtigen künstlichen Fortzüchtungen stark ein. Zwecks der Amingewinnung muß man daher außer Arten und Stamm auch die Generation der Bakterien sowie selbstverständlich auch die Versuchsbedingungen berücksichtigen.

Experimenteller Teil.

1. Untersuchungen mit der Hendersonsche Phosphatmischungen[1]) enthaltenden Nährlösung.

Die Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

Kaliumchlorid	1,0 g.
Ammoniumchlorid	1,0 „
Magnesiumsulfat	0,1 „
Glycerin	25,0 „
Hendersons Phosphatmischung	170,0 ccm
Aqua destillata	ad 1000,0 „

Die folgenden Metallsalze wurden zugesetzt:

Ferrosulfat, Nickel-, Kobalt-, Mangano-, Chrom-, Uranyl-, Stanno-, Blei-, Wismut-, Silber-, Kupfer-, Zink-, Quecksilberoxyd- und Aluminiumphosphat. Als Kontrolle wurde eine Probe ohne Zusatz eines Metallsalzes ausgeführt.

In einem samt seinem Wattepfropfen vorher trocken sterilisierten kurzhalsigen Kolben von 1 Liter Inhalt trug ich 800,0 ccm Nährlösung mit ca. 0,5 g der obenerwähnten Metallsalze und 2,0 g l-Tyrosin ein. Nach dem Sterilisieren im Kochschen Dampftopf wurden 20 Agarkulturen von Proteus vulgaris, in derselben sterilen Nährlösung aufgeschwemmt, zugesetzt. Ich arbeitete gleichzeitig mit 2 Kolben, resp. 4,0 g l-Tyrosin. Proteusbacillen wurden aus faulendem Pankreasbrei isoliert, welcher unter Zusatz von ungefähr dem gleichen Volum einer 2proz. Sodalösung 24 Stunden lang im Brutschrank gestanden hatte. Auf der Agaroberfläche bilden sie graue, feuchtglänzende, leicht konfluierende Kolonien, aus denen wir sie rein kultivieren konnten. Sie stimmten mit einem authentischen Laboratoriumstamm von Proteus vulgaris in allen Punkten unter Zugrundelegung der bakteriologischen Charakterisierungsmethode ganz gut überein. Die dabei zugesetzten Bakterien wurden auf gewöhnlichen, schiefen Agarnährböden in Reagensgläschen möglichst lückenlos ausgebreitet, 24 Stunden lang im Brutschrank kultiviert und sodann der Nährlösung zugesetzt. Der Kolben, welcher 40 Tage im Brutschrank bei 37° C aufbewahrt wurde, wurde täglich einmal vorsichtig geschwenkt. Nachdem ich sodann die Reinheit der Bakterien kon-

[1]) Die Phosphatmischung wurde nach Henderson aus einer 20proz. Phosphorsäure unter Zusatz von Normalnatronlauge bereitet, deren Quantum 95% der unter Benutzung von Phenolphthalein ganz neutralisierenden Menge ausmacht. Ergebn. d. Physiol. 8, 254. 1909.

Tabelle I.

	Kontrolle	Fe	Ni	Co	Mn	Cr	U	Sn	Pb	Bi	Ag	Cu	Zn	Hg	Al
Datum	5. III. 1918	9. XI. 1917	25. VI. 1918	18. VII. 1918	21. XII. 1917	16. XI. 1917	6. XI. 1917	31. V. 1918	16. III. 1918	4. VII. 1918	8. VI. 1918	24. VI. 1918	13. III. 1918	23. III. 1918	19. XI. 1917
Angewandtes Tyrosin . . .	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g
Zurückgewonnenes Tyrosin . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,07 g	—
Saure Abbauprodukte . .	0,56 g	3,00 g	1,15 g	1,60 g	2,10 g	2,96 g	3,24 g	1,08 g	1,60 g	1,00 g	1,10 g	—	2,10 g	—	3,32 g

Anmerkung: Datum, die Zeit der Einstellung der Kolben im Brutschrank, Metallsalze durch das Symbol des Metallelementes bezeichnet.

Tabelle II.

	Kontrolle	Fe	Ni	Co	Mn	Cr	U	Sn	Pb	Bi	Ag	Cu	Zn	Hg	Al
Datum	5. III. 1918	9. XI. 1917	25. VI. 1918	18. VII. 1918	21. XII. 1917	16. XI. 1917	6. XI. 1917	31. V. 1918	16. III. 1918	4. VII. 1918	8. VI. 1918	24. VI. 1918	13. III. 1918	23. III. 1918	19. XI. 1917
Angewandtes Tyrosin . . .	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g
Zurückgewonnenes Tyrosin . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Saure Abbauprodukte . .	0,40 g	0,53 g	—	0,40 g	0,75 g	0,70 g	1,20 g	0,33 g	0,35 g	0,30 g	0,95 g	—	0,75 g	0,05 g	0,49 g

statiert hatte, vereinigte ich die 2 Portionen in einem Gefäß und destillierte das Gemisch bei ca. 40° C unter Zusatz von Alkohol im Vakuum bis zum Sirup ab, der sodann mit siedendem Alkohol erschöpfend extrahiert wurde, bis eine Probe keine Millonsche Reaktion mehr gab. Den Rückstand vom abdestillierten Alkohol löste ich in Wasser auf. Die unter Zusatz von verdünnter Salzsäure stark sauer gemachte Lösung wurde sodann 24 Stunden mittels des Kumagawa-Sutoschen Flüssigkeitsextraktors mit Äther ausgezogen. Die nach dem Abdampfen des Äthers ausgeschiedenen Krystalle wurden auf einer Tonplatte abgepreßt und sodann weiter gereinigt. Durch Krystallform, Schmelzpunkt 170° C (unkorr.), Mischprobe mit der schon analytisch bestimmten d-p-Oxyphenylmilchsäure und optische Drehung nach rechts erwies sich die isolierte Substanz als d-p-Oxyphenylmilchsäure.

Um das noch unverzehrt gebliebene Tyrosin zurückzugewinnen, benutzte ich nur solche in Alkohol nicht gelösten Rückstände, welche positive Millonsche Reaktion zeigten. Dieser Rückstand wurde in Normalsalzsäure aufgelöst und filtriert. Das Filtrat wurde mit einer 15 proz. Natronlauge neutralisiert. Nachdem die dabei ausgeschiedenen Krystalle abgenutscht worden waren, wurden sie aus heißem Wasser umkrystallisiert.

Wie Tabelle I zeigt, wird die Bildung der d-p-Oxyphenylmilchsäure, wenn auch in verschiedenem Grade, beeinflußt. Bei den mit Kupfer- und Quecksilberoxydphosphat versetzten Proben wurde jedoch keine d-p-Oxyphenylmilchsäure konstatiert, obgleich fast kein unverändert gebliebenes Tyrosin zurückgewonnen wurde.

Bei den mit Ferrosulfat, Uranyl- und insbesondere mit Aluminiumphosphat verfolgten Proben gelang es mir aus l-Tyrosin durch Proteusbacillen d-p-Oxyphenylmilchsäure in ganz guter Ausbeute zu isolieren. Da ich bei einer so ausgedehnten Versuchsreihe Bakterien ganz derselben Generation zu verwenden außer Stande war, wiederholte ich später den vergleichenden Versuch unter Zusatz von Aluminiumphosphat und gleichzeitig ohne Zusatz desselben als Kontrolle mit demselben Proteusstamm unter der gleichen Bedingung. Die Ausbeute der dabei isolierten d-p-Oxyphenylmilchsäure war, obwohl etwas geringer als bei den früheren Versuchen, doch ziemlich groß, und zwar auffallend größer als in der Kontrollprobe:

	Kontrolle	Al
Datum	19. X. 1918	19. X. 1918
Angewandtes Tyrosin . . .	4,0 g	4,0 g
Zurückgewonnenes Tyrosin	—	—
Oxysäure	1,60 g	2,50 g

Somit ist klar gezeigt, daß Aluminiumphosphat in bezug auf die bakterielle Bildung der d-p-Oxyphenylmilchsäure aus l-Tyrosin einen günstigen Einfluß ausübt.

2. Untersuchungen mit der Milchzucker enthaltenden Nährlösung ohne Hendersonsche Phosphatmischung.

Folgende Nährlösung wurde verwendet:

Natriumchlorid	5,0 g	Glycerin	25,0 „
Monokaliumphosphat . .	2,0 „	Milchzucker	1,0 „
Ammoniumcarbonat . . .	1,0 „	Aqua destillata . .	ad 1000,0 ccm
Magnesiumsulfat	0,1 „		

Diese Versuchsbedingung ist nach Untersuchungen von Sasaki und seinen Mitarbeitern als ungünstig für die Oxysäurebildung erkannt, während sie für die Aminbildung aus Aminosäuren vorteilhaft ist.

Die Untersuchung wurde ganz in derselben Weise wie beim ersten ausgeführt. In diesem Falle konnte ich keinen besonders guten Einfluß der Metallverbindungen auf die Bildung von d-p-Oxyphenylmilchsäure feststellen. Bis auf die Quecksilbersalzprobe war die isolierte krystallinische Säure bei allen Versuchen d-p-Oxyphenylmilchsäure. Auffallenderweise bekam ich beim Quecksilberoxydphosphatversuch p-Oxyphenylessigsäure. Nach Schmelzpunkt und Mischprobe mit analytisch charakterisierter p-Oxyphenylessigsäure (Fp. 148° C) war kein Zweifel, daß die Substanz p-Oxyphenylessigsäure darstellte (s. Tabelle II).

Die Menge der p-Oxyphenylessigsäure war zu gering, um analysiert zu werden. Ich wiederholte somit den Versuch mit 10,0 g l-Tyrosin unter sonst ganz denselben Verhältnissen und gewann dabei 0,1136 g analysenreinen p-Oxyphenylessigsäure.

Die Substanz wurde bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet:

0,1136 Subst.	0,2628 CO_2	0,0564 H_2O
$C_8H_8O_3$	Ber.	Gef.
C	63,11	63,09
H	5,30	5,55

Wie ist die Verteilung der Glucose zwischen den roten Blutkörperchen und der äußeren Flüssigkeit zu erklären?

Zur Physiologie des Blutzuckers. V.

Von

Rich. Ege.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 26. November 1920.)

Wie ich in einem früheren Aufsatz hervorgehoben habe, kann man die Verteilung der Glucose zwischen den Blutkörperchen und der äußeren Flüssigkeit nicht befriedigend erklären, bevor entschieden ist, ob die Volumenveränderungen der Blutkörperchen in Flüssigkeiten verschiedenen osmotischen Druckes sich aus einfachen osmotischen Gesetzen herleiten lassen.

Ich habe diese Frage einer Behandlung unterworfen, die bereits abgeschlossen ist und bald veröffentlicht werden wird. Das Resultat dieser Untersuchungen ist, daß die Volumenveränderungen des Blutkörperchens nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ durch die osmotischen Kräfte bedingt sind.

Infolgedessen muß die Hämatokritmethode für Untersuchungen der Permeabilitätsverhältnisse von Stoffen gegenüber dem Blutkörperchenhäutchen besonders geeignet sein, eine Ansicht, die durch verschiedene Ergebnisse bestätigt worden ist.

Es wäre demnach zu erwarten, daß es ein Leichtes sein würde, festzustellen, inwiefern die Glucose, die — den direkten Analysen nach — mit den Blutkörperchen verbunden ist, in osmotisch aktiver Form innerhalb der Blutkörperchen oder nur an die Oberfläche adsorbiert vorhanden ist. Wie die folgenden Versuche zeigen werden, ist dies aber keineswegs leicht; das Volumen und die Volumenveränderungen der Menschenblutkörperchen in Glucoselösungen sind solcher Natur, daß es mir unmöglich ist, die Versuche durch ein „Entweder-Oder" zu erklären. Soweit

es möglich war, die Versuche zu deuten, erscheint mir ein „Sowohl-Als" der einzige Ausweg. Die Glucose scheint sowohl in die Blutkörperchen hineindringen als an die Oberfläche adsorbiert werden zu können. Die Hypothese ist daher eine etwas verwickelte, und sie vermag kaum eine wirkliche Erklärung sämtlicher Tatsachen zu geben; namentlich ist die Glucoseverteilung unter natürlichen Verhältnissen außerordentlich schwer mit der aufgestellten Erklärung in Übereinstimmung zu bringen; sie ist daher zunächst als eine Arbeitshypothese aufzufassen, die neuen Versuchen als Grundlage dienen mag.

Bevor ich auf das Verhältnis der Menschenblutkörperchen näher eingehe, ist kurz zu besprechen, wie die Blutkörperchen anderer Tiere sich in Glucoselösungen verhalten.

Da die Blutkörperchen des Hundes sowohl nach Masings[1]) als nach Kozawas[2]) Untersuchungen eine Sonderstellung einnehmen, behandeln wir die Versuche mit Hundeblutkörperchen für sich.

Von anderen Tierarten habe ich Versuche angestellt bei Kaninchen, Ziege und Rind, deren Blutkörperchen sich, was die direkten Analysen betrifft, der Glucose gegenüber gleichmäßig verhielten, was auch betreffs der Hämatokritversuche der Fall war.

Es zeigte sich, daß die Blutkörperchen in reinen Glucoselösungen nicht anschwellen, was als ein Beweis der Impermeabilität des Blutkörperchenhäutchens der Glucose gegenüber zu betrachten ist.

Außerdem war das Blutkörperchenvolumen geringer (um etwa 10%) als in den damit isosmotischen NaCl-Lösungen, wie eben zu erwarten war, wenn die Glucose nicht in die Blutkörperchen hineinzudringen vermag[3]).

Die osmotischen Untersuchungen stimmen mit anderen Worten mit den direkten chemischen Analysen überein.

Das Blutkörperchenhäutchen ist — bei diesen Tieren — impermeabel für Glucose.

Nach Masing und Kozawa verhalten die Hundeblutkörperchen sich in Glucoselösungen sehr eigenartig. Kozawa

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **149**. 1913.

[2]) Diese Zeitschr. **60**. 1914.

[3]) Die nähere Erklärung dieses Verhältnisses wird in einer folgenden Abhandlung gegeben werden.

findet, daß die Hundeblutkörperchen — allerdings ohne ein vorhergehendes Anschwellen — in dem Plasma isosmotischer Glucoselösungen hämolysieren, und daß sie in einer 0,9proz. NaCl-Lösung, die durch Zusatz von Glucose in Substanz hyperosmotisch gemacht worden ist, nicht einschrumpfen, und schließt in Übereinstimmung mit seinen chemischen Analysen, nach denen die Blutkörperchen schwankende Mengen von Glucose enthalten, daß die Glucose in die Blutkörperchen eingedrungen ist, obgleich sie in einer Mischung von gleichen Teilen von Ringerscher Flüssigkeit und „isotonischer" Glucoselösung nicht anschwellen wollen (!).

Die untenstehenden Versuche zeigen, wie die Hundeblutkörperchen sich nach meinen Untersuchungen in Glucoselösungen und kontrollhalber in NaCl-Lösungen verhalten.

Versuch 1: 0,04 ccm Hunde-Blutkörperchen[1]) wurden mit Capillarpipette abgemessen und in den Trichter eines Hamburgerschen Conohämatokrits hinabgeblasen, worin sich 3 ccm der untenstehenden Lösungen befanden; die Blutkörperchen wurden mit der Flüssigkeit gemischt, worauf das Zentrifugieren nach den in den Tabellen angegebenen Zeiten begann.

	Δ	Zeit nach der Vermischung	Blutkörperchenvolumen
ca. $^1/_2$ m NaCl	1,70	60 Min.	63
ca. $^1/_4$ m NaCl	0,92	sofort	81,8
ca. $^1/_6$ m NaCl	0,60	„	100[2])
6% Glucose	etwa 0,66	10 Min.	99,5
$^1/_8$ m NaCl, 4,5% Glucose	„ 0,96	60 „	81
10,8% Glucose, $^1/_{60}$ m KNO_3	„ 1,25	60 „	65
5,8% Glucose, $^1/_{240}$ m KNO_3	„ 0,66	30 „	98,5

Dieser Versuch gibt ein anderes Resultat als der von Kozawa angestellte; das Hauptresultat ist, daß die Blutkörperchen einigermaßen ein Volumen einnehmen, wie nach dem osmotischen Druck der äußeren Flüssigkeiten zu erwarten war, es sei, daß die äußere Flüssigkeit aus NaCl allein, Glucose allein oder einer Mischung von Glucose mit kleinen sowie mit großen Elektrolytenmengen besteht.

Da die Zentrifugierung bei einigen von den Versuchen, in denen die äußere Lösung Glucose enthielt, erst 1 Stunde nach

[1]) Hier sowie an anderen Stellen, wo nichts anderes angegeben wird, wurde das Blut so weit in Kaliumoxalat entleert, daß das Blut 0,1% enthielt.

[2]) Das Blutkörperchenvolumen im $^1/_6$ m NaCl kurz nach der Vermischung = 100.

der Vermischung stattfand, zeigt der Versuch also, daß das Blutkörperchenhäutchen des Hundes für Glucose impermeabel oder wenigstens ganz außerordentlich wenig permeabel ist.

Um zu entscheiden, ob das Blutkörperchenhäutchen tatsächlich für Glucose impermeabel ist, wurde daher mit demselben Blut folgender Versuch angestellt:

Versuch 2: 2 ccm Blut wurden mit 40 ccm der untenstehenden Lösungen gemischt. Zu den angegebenen Zeitpunkten wurde 1 ccm dieser Mischung abpipettiert und das Blutkörperchenvolumen darin bestimmt.

	Δ	Zeit	Relatives Blutkörperchenvol. dir. abgelesen	für Häm. korr.
$^1/_6$ m NaCl	0,61	15 Min.	100	
		$3^1/_4$ Stunden	104	
		$22^1/_2$ „	102	
		ca. 48 „	91	101
$^1/_8$ m NaCl	0,47	15 Min.	124	
		$3^1/_4$ Stunden	119	127
		$22^1/_2$ „	118	124
		ca. 48 „	110	112
$^1/_4$ m NaCl	0,92	15 Min.	84,5	
		$3^1/_4$ Stunden	84,7	
		$22^1/_2$ „	83,5	
		ca. 48 „	78	86
6% Glucose	0,66	15 Min.	102	
		$1^1/_4$ Stunden	103	
		$3^1/_4$ „		kräft. Häm.
6% Glucose, $^1/_6$ m NaCl .	ca. 1,3	15 Min.	71,8	72,5
		$1^1/_4$ Stunden	70,4	71,8
		3 „	63,8	68,8
		4 „		kräft. Häm.

Die Versuche zeigen, daß sogar nach 3 Stunden nicht so große Glucosemengen in die Blutkörperchen hineingedrungen sein können, daß dies einen meßbaren Einfluß auf das Volumen ausgeübt hat. Außerdem tun die Versuche aber dar, daß die Glucose einen direkt schädlichen (hämolysierenden) Einfluß auf die Blutkörperchen des Hundes ausübt — eine hämolysierende Wirkung, die nichts mit der osmotisch hervorgerufenen Hämolyse zu tun hat, die sich ergeben haben würde, wenn die Glucose durch das Blutkörperchenhäutchen eingedrungen wäre. Vollständigkeitshalber soll noch angeführt werden, daß die Blutkörperchen desselben Hundes in NaCl-Lösungen bis zu 150 anzuschwellen vermochten, bevor die osmotische Hämolyse eintrat.

In diesem Versuch — sowie in anderen entsprechenden Versuchen, die ganz dasselbe Resultat ergaben — fanden auch direkte Zuckerbestimmungen statt; diese hatten ganz das gleiche Ergebnis wie die früher genannten; die zugesetzte Glucosemenge verblieb quantitativ im Plasma[1]).

Als Beispiel eines solchen Versuches führe ich die folgenden Zahlen und Einzelheiten an.

Versuch 3: Hundeblut. Oxalat. Die direkten Zuckeranalysen ergaben folgende Zahlen:

	Blutkörperchen %	Plasma %	$\frac{B}{P}$ %	$\frac{B_1}{P_1}$
Ohne Zucker	0,040	0,202	28	
Mit Zucker 3 Stunden	0,048	1,59	3	0,6

Mit diesem Blut wurden eine Reihe von Hämatokritversuchen angestellt; die wichtigsten davon waren die folgenden:

			Δ	Blutk.
1.	0,90% NaCl	10 Min. nach Verm.	0,60	100
2a.	6,22 „ Glucose	10 „ „ „	0,64[2])	101
3.	0,67 „ NaCl	10 „ „ „	0,42	131
4.	0,67 „ „ 4,16% Glucose .		etwa 0,84	78
2b.	6,22 „ Glucose	$1^1/_2$ St. „ „		24,8
			sehr kräftige Hämolyse	
4b.	0,67 „ NaCl, 4,16% Glucose .	$1^1/_2$ „ „ „		78
4c.	0,67 „ „ 4,16 „ „	$2^1/_2$ „ „ „		77,3

Die Hämolyse der Hundeblutkörperchen, die in isosmotischen Glucoselösungen eintritt und die in einigen Fällen nach 1—2 Stunden fast total sein kann, in anderen Fällen aber erst nach längerer Zeit, hat sowohl Masing als Kozawa zu der Behauptung verleitet, daß die Hundeblutkörperchen für Glucose permeabel seien; sie ist jedoch, wie dargetan wurde, keine Schwellungshämolyse, sondern muß von der direkten hämolysierenden Wirkung der Glucose herrühren, die durch Elektrolytenzusatz abgeschwächt wird. Die Hämolyse wird nicht nur durch so große Salzmengen gehemmt, daß diese allein die Lösung dem Blut isosmotisch machen, sondern ebenso durch bedeutend geringere Mengen.

Versuch 4: Zu 2 ccm 6proz. Glucoselösung wurde 0,1 ccm Blut und 0,2 ccm folgender Lösungen gesetzt: $^1/_6$ m NaCl, $^1/_6$ m $MgSO_4$, $^1/_6$ m KNO_3 und 1% $CaCl_2$; die Hämolyse wurde nach 24 Stunden beobachtet. Die Gläser ließen sich dann in folgende Reihe ordnen:

[1]) Rich. Ege, diese Zeitschr. **111**. 1920.

[2]) Berechnet.

6proz. Glucose	. . . . .	sehr kräftige Hämolyse
6 „ „	+ $^1/_{10}$ Vol. CaCl	kräftige Hämolyse
6 „ „	+ $^1/_{10}$ „ NaCl	Spur von Hämolyse
6 „ „	+ $^1/_{10}$ „ $MgSO_4$	keine Hämolyse

Abgesehen von dieser eigentümlichen direkten hämolysierenden Wirkung, welche reine Glucoselösungen auf Hundeblutkörperchen ausüben, ist im übrigen nichts Besonderes zu bemerken außer dem Umstande, daß die Hundeblutkörperchen nicht, wie die Blutkörperchen anderer Tiere und wie von vornherein zu erwarten wäre, in Glucoselösungen ein geringeres Volumen haben als in damit isosmotischen NaCl-Lösungen, sondern eher ein etwas größeres Volumen. Das Verhältnis ist nicht ganz sicher festgestellt worden, da ich keine direkten Gefrierpunktdepressionsbestimmungen vorgenommen habe. Wie dem aber auch sei, es läßt das Verhältnis sich nicht aus einer langsamen Permeabilität gegenüber Glucose erklären.

Sowohl bei den direkten chemischen Analysen als bei den osmotischen Untersuchungen waren die Hundeblutkörperchen impermeabel für Glucose.

Ganz anders verhalten sich die Menschenblutkörperchen. Da sie den direkten chemischen Analysen gemäß für Glucose leicht permeabel zu sein schienen, so war bei diesen osmotischen Untersuchungen gleichfalls zu erwarten, daß sie sich von den Blutkörperchen bestimmter Tiere unterscheiden würden, was auch der Fall war.

Andererseits verhalten die Menschenblutkörperchen sich in Glucose — oder Glucosesalzlösungen — nicht wie nach den chemischen Analysen zu erwarten war.

Versuch 5: Menschenblut. 1 ccm Blut wird mit 40 ccm 9proz. Glucose $^1/_{100}$ m NaCl vermischt; der Elektrolyt wird zugesetzt, um die Agglutination zu vermeiden, indem eine solche die Permeabilitätsgeschwindigkeit vermindern würde.

	Volumen	Verm. 3^{10} Geschütt.
5 Minuten nach der Vermischung	100	$^1/_6$ m NaCl = 130
30 „ „ „ „	103,3	
85 „ „ „ „	106	
3 Stunden „ „ „	110	
4 „ „ „ „	111	
19 „ „ „ „	112	
28 „ „ „ „	114	

Dieser Versuch stimmt, wie man sehen wird, mit Kozawas Angaben überein, in denen man die ersten 24 Stunden nach der Vermischung ein fortgesetztes langsames Schwellen findet.

Der Versuch stimmt aber ganz außerordentlich schlecht mit den direkten Analysen überein, nach denen die „Zuckertension" bereits nach wenigen Minuten dieselbe oder sehr nahezu dieselbe sein sollte innerhalb und außerhalb der Blutkörperchen, während die Anschwellung selbst nach 28 Stunden nur 14% beträgt.

Bei Beginn des Versuches entspricht der Differenzdruck ungefähr dem vollen Wert der Glucose 9% $\Delta = 0{,}92\%$; ein Anschwellen von 14% würde bedeuten, daß der Differenzdruck der Glucose nun nur etwa $0{,}63° = 6\%$ entspräche[1]). Da die Glucosetension in der äußeren Flüssigkeit fortwährend 9% beträgt, würde das Schwellen seine Erklärung finden, wenn die Glucosetension in den Blutkörperchen nach 28 Stunden nur etwa $^1/_3$ der Glucosemenge entspräche, die bis zur Erreichung des vollen Gleichgewichts diffundieren sollte.

Um zu zeigen, daß das Nichtübereinstimmen der Permeabilitätsverhältnisse gegenüber Glucose nicht in einem Unterschied in betreff der roten Blutkörperchen der einzelnen Individuen beruht, habe ich fast in allen späteren Versuchen sowohl osmotische Untersuchungen als direkte Analysen mit demselben Blut angestellt.

Bei der obengenannten Blutprobe betrug der Glucoseprozentsatz — 6 Stunden nach dem Glucosezusatz — 0,372 im Plasma, 0,290 in den Blutkörperchen, das Verhältnis $\frac{B}{P} = 66\%$, von welchem Verteilungsverhältnis man glauben sollte, daß es einem vollständigen oder fast vollständigen Gleichgewicht entspräche.

Bevor sich entscheiden läßt, inwiefern die mangelnde Übereinstimmung der beiden Versuchsreihen von fundamentalem Charakter ist, muß indes dafür Sorge getragen werden, daß die Versuche unter möglichst denselben Bedingungen ausgeführt werden. Daß die Unübereinstimmung trotzdem noch vorhanden ist, ergibt sich aus untenstehendem Versuch.

[1]) Diese Berechnung fand statt auf Grund einer quantitativen Untersuchung über die Volumenveränderungen des Blutkörperchens in Lösungen verschiedener osmotischer Konzentration eines Anelektrolyten, gegenüber welchem das Blutkörperchenhäutchen impermeabel ist. Einzelheiten darüber werden sich in einem späteren Aufsatz finden.

Versuch 6: 10 ccm Plasma + 0,6 g Glucose + 0,1 ccm Blutkörperchen, davon 2 ccm im Hämatokrittrichter zur Volumenbestimmung zu unten angegebenen Zeiten:

nach 10 Minuten	80
„ 100 „	81
„ 265 „	83
„ 23 Stunden	84

10 ccm Plasma + 0,1 ccm Blutkörperchen = 100.

Wie in einer späteren Abhandlung dargetan werden wird, läßt sich berechnen, daß die Blutkörperchen von 100 bis auf 75 à 80 einschrumpfen müßten, wenn die osmotische Konzentration des Plasmas beim Zusatz von 0,6 g Glucose zu 10 ccm Plasma von $\Delta = 0{,}56°$ zu 1,2° steigen.

Sofort nach der Vermischung nehmen die Blutkörperchen somit praktisch das Volumen in der Glucose-Plasmalösung ein, das sie einnehmen würden, wenn die Blutkörperchen impermeabel gegenüber Glucose wären. Darauf schwellen sie an, aber nur ganz außerordentlich wenig; im Laufe eines Tages sind sie nur von 80—84% geschwollen, während sie nach den direkten Analysen spätestens zu diesem Zeitpunkt bis zu dem Volumen angeschwollen sein müßten, das die Blutkörperchen ursprünglich im Plasma einnahmen. Hier sind jedoch keine direkten Zuckeranalysen ausgeführt worden, solche finden sich aber in dem nächsten Versuch.

Versuch 7: Oxalatblut. Vor dem Zusatz von Zucker betrugen die Blutkörperchen 43% des Blutes; dieses Volumen ist = 100 gesetzt. Zu 10 ccm Blut wurde 0,3 g Glucose gesetzt.

	Blutkörperchenvolumen
3 Minuten nach der Vermischung	35 = 81,5
40 „ „ „ „	36 = 83,5
20 Stunden „ „ „	38 = 88,4

Zu diesem Zeitpunkt fanden direkte Analysen statt, die das folgende Resultat ergaben:

Plasma 4,00% Glucose; Blutkörperchen[1]) 2,30; $\frac{B}{P} = 58\%$.

Nach 48 Stunden: Blutkörperchenvolumen = 37,8, ganz schwache Hämolyse.

Zu dissem Zeitpunkt fand eine neue analytische Bestimmung statt:

Plasma 3,95; Blutkörperchen 2,38; $\frac{B}{P} = 61\%$.

[1]) Gewonnen durch absolut quantitative Herabzentrifugierung in einer Hämatokritzentrifuge (8000 Umdrehungen in der Minute).

Da ein Verteilungsverhältnis $\frac{B}{P}$ von etwa 70%, wie früher besprochen, einem vollständigen Tensionsgleichgewicht entsprechen müßte, wenn die Glucose nur in freier Lösung in den Wasserphasen der beiden Phasen vorhanden ist, zeigt dieser Versuch gleichfalls eine Divergenz zwischen den Hämatokritbestimmungen und den direkten Analysen.

Diese Unübereinstimmung tritt vielleicht noch deutlicher hervor in dem folgenden Versuch.

Versuch 8: 1 Teil Blut + 20 Teile 5,4 proz. Glucose.

	Volumen
Sofort nach der Vermischung	100
$18^1/_2$ Stunden nach der Vermischung . . .	117,2

Ein anderer Teil des Blutes wurde hinabzentrifugiert; der Blutkörperchenbrei (5 ccm), der etwa 80% Blutkörperchen enthielt, wurde mit gleichen Teilen 5,4 proz. Glucose vermischt.

Zeit nach der Vermischung	Blutkörperchenvolumen	Glucosekonzentration in äußerer Lösung	Blutkörp.	$\frac{B}{P}$
20 Minuten	44,5			
60 „		3,76	1,47	39
110 „	46,5			
180 „		3,68	1,64	45
210 „	48,8			
22 Stunden		3,40	2,17	64
$22^1/_2$ „	50,2[1])			

Hier ist die mangelnde Übereinstimmung ganz offenbar. Dem Zeitpunkt der letzten Analyse entsprechend müßte man — nach dem Verteilungsverhältnis im Vergleich mit dem Verhältnis zwischen der Wasserphase[2]) in dem Blutkörperchen und der äußeren Flüssigkeit — meinen, daß wir einem ungefähren Tensionsgleichgewicht in betreff der Glucose gegenüberständen; das Blutkörperchenvolumen müßte in dem Falle von der osmotischen Konzentration der Glucose unabhängig sein und nur durch die Salzkonzentration der äußeren Flüssigkeit bestimmt werden. Da 5 ccm Blutkörperchenbrei — etwa 1 ccm Oxalatplasma enthaltend — mit 5 ccm Glucoselösung verdünnt worden sind, entspricht die osmotische Konzentration der Salze $^1/_{15}$ mol

[1]) Zu diesem Zeitpunkt lag schwache Hämolyse vor, so daß das wahre Blutkörperchenvolumen um einige wenige Prozent höher liegen muß.

[2]) Über die Größe der Wasserphase in dem Blutkörperchen siehe eine spätere Abhandlung.

$\Delta = 0{,}12$. In einer solchen Lösung müßten die Blutkörperchen um mehrere 100% geschwollen sein, oder es müßte, da sie ja ein solches Schwellen nicht aushalten können, eine totale Hämolyse eingetreten sein. Tatsächlich hat nur ein recht geringes Schwellen stattgefunden. Wie groß die Schwellung war, läßt sich zum Teil berechnen, indem eine Vermischung des Blutes mit 80% Blutkörperchen mit gleichen Teilen 5,4proz. Glucoselösung stattgefunden hat. Da diese Lösung ungefähr isotonisch (schwach hypertonisch) ist — wohl zu bemerken, wenn man davon ausgehen könnte, daß die Glucose nicht in die Blutkörperchen eindringt und die Menschenblutkörperchen somit in einer Glucoselösung dasselbe Volumen einnehmen wie z. B. Kaninchenblutkörperchen — müßte man eines Blutkörperchenvolumens von etwa 40% gewärtig sein.

Das augenblickliche Volumen ist also folgendermaßen anzusetzen:

	etwa 40% = 100
20 Minuten nach der Vermischung	44,5 = 111
120 „ „ „ „	46,5 = 116
200 „ „ „ „	48,8 = 122
22 Stunden „ „ „	50,2 schw. Häm. 125—130

Wir können jetzt die gefundene Volumenveränderung mit derjenigen vergleichen, die man zu erwarten hätte, wenn die Glucose in die Blutkörperchen hineingedrungen und hier in osmotisch aktivem Zustand vorhanden wäre. Bei der Berechnung wollen wir vorläufig davon absehen, daß die gefundenen Zuckerkonzentrationen in Blutkörperchen und äußerer Flüssigkeit nicht den tatsächlichen Tensionen entsprechen.

	Äußere Lösung			Blutkörperchen	
Zeit nach Verm.	Salzkonz. Δ	Glucosekonz. Δ	Summe Δ	Salzkonz. Δ	Glucosekonz. Δ
1 Stunde	0,12	0,39	0,51	etwa 0,60	0,15
3 Stunden	—	0,38	0,50	—	0,17
22 „	—	0,35	0,47	—	0,22

Die Summe der Salz- + Glucosekonzentration der äußeren Flüssigkeit ist indessen nicht maßgebend für den osmotischen Druck, der das Blutkörperchenvolumen bestimmt, denn gleichzeitig ist die osmotische Konzentration des Blutkörperchens um diejenige osmotische Konzentration gestiegen, die der hineindiffundierten Glucosemenge entspricht; einfacher ist es, davon

auszugehen, daß man nur mit dem Differenzdruck der Glucose in den beiden Phasen als aktivem osmotischen Druck der Glucose in der äußeren Flüssigkeit rechnen kann; derselbe beträgt:

		Δ
Nach	1 Stunde	$0{,}39 \div 0{,}15 = 0{,}24°$
„	3 Stunden	$0{,}38 \div 0{,}17 = 0{,}21°$
„	22 „	$0{,}35 \div 0{,}22 = 0{,}13°$

Wenn man die kleinere Wasserphase des Blutkörperchens berücksichtigen und versuchen will, die gefundenen Konzentrationen im Blutkörperchen in Tensionen umzurechnen, muß man mit etwa $^{10}/_{7}$ multiplizieren und wird dann folgende Zahlen erhalten:

		Δ
Nach	1 Stunde	$0{,}39 \div 0{,}21 = 0{,}18°$
„	3 Stunden	$0{,}38 \div 0{,}24 = 0{,}14°$
„	22 „	$0{,}35 \div 0{,}31 = 0{,}04°$

Wir können sodann dazu übergehen, zu berechnen, wie groß die Schwellung der Blutkörperchen sein sollte, wenn die Glucose in die Blutkörperchen hineindiffundiert und dort in osmotisch aktivem Zustand vorhanden wäre.

Zeit nach der Vermischung	Δ	Vol. berechnet nach der direkt gefund. Konz.	Δ	Vol. berechnet nach der veranschlagten Tens.	Beob. Vol.
20 Minuten					111
1 Stunde	$0{,}12 + 0{,}24 = 0{,}36°$	130	$0{,}12 + 0{,}18 = 30°$	158	113[1])
2 Stunden					116
3 „	$0{,}12 + 0{,}21 = 0{,}33°$	138	$0{,}12 + 0{,}14 = 26{,}0°$	164	120[1])
3,20 „					122
22 „	$0{,}12 + 0{,}13 = 0{,}25°$	170	$0{,}12 + 0{,}04 = 0{,}16°$	242	125
					bis 130[1])
$22^1/_2$ „					125—130

Die den verschiedenen osmotischen Konzentrationen entsprechenden Blutkörperchenvolumina wurden nach van 't Hoff-Boyle-Mariottes Gesetz berechnet[2]), indem das Blutkörperchenvolumen in einer Glucoselösung mit $\Delta = 0{,}54$ zu 100 angesetzt

[1]) Die mit [1] bezeichneten Volumina sind bei der Interpolation bei Mittels die übrigen — direkt beobachteten — Blutkörperchenvolumina zu berechnen.

[2]) Daß die Veränderungen des Blutkörperchens in Flüssigkeiten verschiedenen osmotischen Druckes van't Hoff-Boyle-Mariottes Gesetz befolgen, wird in einem späteren Aufsatz dargetan werden.

wurde, und unter der Voraussetzung, daß die disperse Phase im Blutkörperchen 40% beträgt. Die obenstehende Tabelle zeigt, daß das Anschwellen bei weitem nicht so schnell und nicht annäherungsweise in dem Maße stattfindet, wie zu verlangen wäre, wenn die Glucosemenge, die nach den direkten Analysen (ausgeführt an derselben Blutprobe und unter denselben Bedingungen, ja in diesem Falle sogar in demselben Versuch) in dem Blutkörperchen gefunden ist, in gelöstem Zustande in der Wasserphase vorhanden ist.

Daraus sieht man, daß Masings und Kozawas Annahme, nach der die direkten Zuckerbestimmungen und die Schwellungsbestimmungen übereinstimmen sollten, nicht richtig sein kann, was eine nähere Analyse ihrer Arbeiten ja bereits dargetan hat.

Es liegt daher vielleicht der Gedanke auf der Hand, daß die Glucose, die an die Blutkörperchen gebunden vorhanden war, nicht in osmotisch aktivem Zustande in der Wasserphase der Blutkörperchen gelöst vorhanden war, sondern adsorbiert oder an das Blutkörperchen chemisch gebunden war. Hier hat man zuvörderst an eine Adsorption an das Blutkörperchenhäutchen zu denken; in dem Falle muß das Blutkörperchenvolumen in dem obengenannten Versuch durch die gesamte osmotische Konzentration der äußeren Flüssigkeit bestimmt sein. Die osmotische Konzentration der äußeren Lösung und das daraus berechnete Volumen finden sich in der folgenden Tabelle:

Zeit nach der Vermischung	osmotische Konz. Δ	Ber. Vol.	Gef. Vol.
20 Minuten			111
1 Stunde	0,51°	104	
2 Stunden			116
3 „	0,50°	105	
3,20 „			122
$2^1/_2$ „	0,47°	109	125—130

Aus der Tabelle geht deutlich hervor, daß die Blutkörperchen, wenn sie auch in bedeutend geringerem Grade geschwollen sind, als sie es sein sollten, falls die Glucosemenge, die sich nach den Analysen als an die Blutkörperchen geknüpft ergab, in osmotisch aktivem Zustande in der Wasserphase des Blutkörperchens vorhanden sein sollte, andererseits in höherem Grade angeschwollen sind als man erwarten sollte, wenn die Glucose des Blutkörperchens

ausschließlich an die Blutkörperchenoberfläche adsorbiert wäre. Dasselbe geht natürlicherweise weit deutlicher aus den eigentlichen Hämokritversuchen hervor, wo die Glucoselösung sich in so reichlichen Mengen findet, daß ihre Konzentration die gleiche bleibt, wenn auch etwas Glucose an die ganz geringe Menge von Blutkörperchen adsorbiert wird, die in der Lösung aufgeschwemmt vorhanden sind. Trotzdem die osmotische Konzentration derselben aber fortwährend die gleiche ist, werden die Menschenblutkörperchen langsam, aber überaus deutlich schwellen.

Ich finde daher keinen anderen Ausweg, als anzunehmen, daß die Glucose teils gebunden (an die Oberfläche des Blutkörperchens adsorbiert) wird, teils ganz langsam in das Blutkörperchen eindringt, wo sie in der Wasserphase des Blutkörperchens gelöst wird.

Diese Annahme ist — wie schwer es auch fallen mag, sie in einzelnen Stücken aufrechtzuerhalten, und wie kompliziert sie auch ist — dennoch als die wahrscheinlichste zu bezeichnen.

Von anderen Erklärungsmöglichkeiten könnte ich mir folgende denken:

1. Die osmotische Auffassung des Volumens des Blutkörperchens als Funktion des Unterschieds zwischen der osmotischen Konzentration der äußeren und inneren Flüssigkeit trifft nicht zu.

2. Das Blutkörperchenhäutchen ist nicht impermeabel für Kationen[1]). Gleichzeitig mit dem Eintritt der Glucose werden Salze aus den Blutkörperchen hinausdringen; in dem Falle würde die Anschwellung in einer Glucoselösung nicht so groß werden wie aus der hineindiffundierten Glucosemenge berechnet.

Von der ersten Erklärungsmöglichkeit glaube ich absehen zu können; in einer Reihe späterer Abhandlungen wird dargetan werden, daß die osmotische Theorie im großen ganzen die Volumenveränderungen des Blutkörperchens hinreichend erklärt, was man dagegen keineswegs von der kolloidchemischen Theorie sagen kann, und was die zweite Erklärung betrifft, gebe ich zu, daß es verschiedene Verhältnisse gibt, die darauf zu deuten scheinen, daß das Blutkörperchenhäutchen nicht durchaus im-

[1]) Daß die Blutkörperchen nicht für Anionen impermeabel sind, ist wohlbekannt; die Anionenpermeabilität der Blutkörperchen wird in einem späteren Aufsatz ausführlich behandelt werden.

permeabel für Kationen ist, aber andererseits liegen eine Reihe von Tatsachen vor, die einer solchen Annahme widersprechen.

Wenn ich dennoch zu der Ansicht neige, daß die Glucose, gleichzeitig mit der Adsorption an das Blutkörperchen (speziell an die Oberfläche), langsam hineindringt, beruht das teils auf dem mit der zunehmenden Zuckerkonzentration abnehmenden Verteilungsverhältnis $\frac{B}{P}$ und teils namentlich auf den Resultaten des untenstehenden Versuches.

Versuch 9: Menschenblut. 2 ccm Blutkörperchenbrei + 2 ccm $^1/_8$ m NaCl, etwa 0,4% Glucose, wurden 4^h p. m. vermischt und ununterbrochen bis zu dem nächsten Tag 11^h a. m. = 19 Stunden geschüttelt, zu welchem Zeitpunkt Zuckeranalysen ausgeführt wurden.

Plasma = 0,262% Glucose
Blutkörperchen = 0,182% Glucose
$\frac{B}{P} = 68{,}7\%$

Eine Volumenbestimmung ergab 46,7% Blutkörperchen.

In ganz derselben Weise wurde eine Mischung von 2 ccm desselben Blutkörperchenbreies und 2 ccm $^1/_2$ m NaCl, etwa 0,4% Glucose, behandelt. Hier wurden folgende Glucosekonzentrationen gefunden:

Plasma	0,207
Blutkörperchen	0,177

$\frac{B}{P} = 85{,}5$

Das Blutkörperchenvolumen betrug 29.

Wenn die Glucose nur gelöst in der Wasserphase des Blutkörperchens gefunden würde, müßte man natürlicherweise erwarten, daß das Verteilungsverhältnis zwischen den Blutkörperchen und der äußeren Flüssigkeit um so größer wäre, je hypotonischer die äußere Flüssigkeit ist, indem die Wasserphase des Blutkörperchens mit der Anschwellung steigen muß. Dies ist aber, wie der Versuch zeigt, nicht der Fall.

Das Verteilungsverhältnis ist am größten in dem Falle, wo die Blutkörperchen in der stark hypertonischen Lösung ausgeschwemmt waren, was zu erwarten war, falls auch (oder ausschließlich) Glucose an die disperse Phase des Blutkörperchens geknüpft wäre, indem diese pro Gewicht- oder Volumeneinheit Blutkörperchen um so viel größer ist, in je höherem Grade diese eingeschrumpft sind.

Es mag recht aufklärend sein, das Verteilungsverhältnis von Glucose mit dem Verhältnis zwischen den disponibeln Wassermengen in den Blutkörperchen und der äußeren Lösung zu vergleichen. Die disponible Wassermenge finden wir, indem wir das Volumen der dispersen Phase von dem gesamten Volumen abziehen; die disperse Phase, die nach verschiedenen Methoden bestimmt worden ist, ergab sich als etwa 10% größer als der durch gewöhnliche Trockensubstanzbestimmung gefundene Wert.

	Verhältnis zwischen der Wassermenge des Blutkörperchen und der äußeren Flüssigkeit $\frac{Bv}{Yv}$	Verteilungsverhältnis von Glucose
In hypotonischer Lösung	etwa 70%	69,5
In hypertonischer Lösung.	etwa 52%	85,5

Dieser Versuch widerspricht durchaus einer einfachen Verteilung nach den Wassermengen der beiden Phasen und scheint zu zeigen, daß die Übereinstimmung, die man gewöhnlich für Zuckerkonzentrationen in der äußeren Lösung zwischen der

$$\frac{\text{Wasserphase des Blutkörperchens}}{\text{Wasserphase der äußeren Lösung}}$$ und

$$\frac{\text{Zuckerkonzentration im Blutkörperchen}}{\text{Zuckerkonzentration in der äußeren Lösung}}$$ findet, auf rein zufälligen Umständen beruht und nicht rationell begründet ist.

Schließlich müssen wir zu der entscheidenden Frage zurückkehren: Stellen die gefundenen Verteilungsverhältnisse die Verteilung bei dem absoluten Gleichgewichtszustand dar, oder stehen wir einem Verteilungsverhältnis gegenüber, das nur von einem bestimmten Zeitpunkt in der Periode gilt, bevor das endgültige Gleichgewicht erreicht wird.

Nachdem ich Masings Untersuchungen kennengelernt hatte, aber bevor ich darüber im klaren war, in welchem Grade sich seine Versuche widersprechen — wohl zu bemerken, wenn man den Verhältnissen seine eigene Deutung zugrunde legt — ging ich davon aus, daß er recht habe, wenn er behauptete, das Glucosegleichgewicht zwischen der äußeren Flüssigkeit und den Blutkörperchen bei gewöhnlicher Temperatur sei in weniger als einer Stunde eingetreten; ein vereinzelter Versuch, den ich anstellte, schien dies zu bestätigen.

Versuch 10: Menschenblut (Glucosezusatz).

	B	P	$\frac{B}{P}$
Nach $1^1/_2$stündigem Schütteln	0,330	0,693	48
Nach 24stündigem Stehenlassen	0,344	0,680	51

Die geringe Verschiebung des Verteilungsverhältnisses von 48% auf 51%, die ich damals geneigt war, einem Versuchsfehler zuzuschreiben, war sicherlich, wie aus den folgenden Versuchen hervorgehen wird, eine tatsächliche.

In den Versuchen, die ich in meinen früheren Abhandlungen publiziert habe[1]), ist teils wegen dieses Versuches, teils infolge von Masings Versuchen auf die Zeit nur insoweit Rücksicht genommen, als daß sie in allen Fällen eine Stunde übertroffen hat (und innerhalb der einzelnen Versuchsreihe identisch war); in dem Falle glaubte ich mich darauf verlassen zu können, daß das Gleichgewicht eingetreten sein müßte, was wahrscheinlich nicht der Fall war.

Da die Hämatokrituntersuchungen gezeigt haben, daß die Glucose sehr langsam eindringen muß, habe ich in 2 Fällen Serienbestimmungen angestellt. Durch diese Versuche gelang es auch, auf direktem chemischen Wege festzustellen, daß die Glucose ganz langsam in das Blutkörperchen „hineindringt". Ich kann zum Teil auf einen Versuch verweisen, der S. 95 bereits eingehend besprochen wurde, weshalb ich nur die Zuckerkonzentrationen selbst zu wiederholen brauche.

	Blutkörperchen	Plasma	$\frac{B}{P}$
1 Stunde nach der Vermischung . .	1,47	3,76	40
$2^1/_2$ Stunden „ „ „ . .	1,64	3,68	44
22 „ „ „ „ . .	2,17	3,40	64

Ein anderer Versuch ergab dasselbe Resultat.

10 ccm Menschenblut (Oxalat). Etwas Plasma wurde abpipettiert und mit etwa 4,9% Glucose vermischt.

5 Minuten später wurden Blutkörperchen und Plasma quantitativ in der schnellaufenden Zentrifuge voneinander getrennt; die Glucosekonzentration im Glucoseplasma und in den Blutkörperchen wurde bestimmt. Dasselbe wurde ab und zu wiederholt.

Das Resultat des Versuches ist aus der folgenden Tabelle ersichtlich:

---

[1]) Diese Zeitschr. **111**. 1920.

Zeit nach der Vermischung	Glucosekonzentration		$\frac{B}{P}$
	Blutkörp.	Plasma	
5 Minuten	0,88	3,10	29
1 Stunde 40 Minuten	1,28	2,96	43
3 Stunden	1,34	2,92	46
6 „	1,54	2,73	56
26 „	1,71	2,68	64

Dieses analytische Material, das uns zeigt, daß praktisch gesprochen die Hälfte der Glucosemenge, die im Laufe von 26 Stunden an die Blutkörperchen geknüpft wird, bereits nach 5 Minuten an dieselben gebunden ist, wonach ganz langsam immer mehr Glucose an die Blutkörperchen gebunden wird, ist am leichtesten zu verstehen durch die Annahme, daß die Glucosemenge, die praktisch gesprochen momentan an die Blutkörperchen gebunden wird, von diesen adsorbiert wird, wonach die Glucose erst allmählich in die Blutkörperchen hineindringt. Außerdem wird es erst dadurch möglich, einige Übereinstimmung zwischen den direkten Zuckeranalysen und den Volumenveränderungen aufzubringen.

Selbst nach 26 Stunden ist das Gleichgewicht ganz sicherlich nicht erreicht worden, wie der folgende Hämatokritversuch mit denselben Blutkörperchen zu zeigen scheint.

1 ccm Menschenblut zu 40 ccm 5,5 proz. Glucose, davon 2 ccm zur Volumenbestimmung zu folgenden Zeitpunkten:

	Blutkörperchenvolumen
3 Minuten nach der Vermischung	95,6
$1^1/_2$ Stunden „ „ „	103,1
1 „ „ „ „	109,2
21 „ „ „ „	121,0
48 „ „ „ „	148,0
	schwache Hämolyse

Zum Vergleich dient, daß dasselbe Blut in $^1/_6$ m NaCl sofort ein Volumen von 0,02210 ergab, das = 120 gesetzt wurde, indem das Volumen in $^1/_6$ m NaCl, das ja in der Regel zum Vergleich dient, in dem Falle einen Wert von etwa 100 haben wird. Nach der gewöhnlichen Anschwellung wurde das Volumen wieder vermindert, so daß es nach 24 Stunden 118, nach 48 Stunden 117 betrug[1]).

In einer $^1/_6$ m NaCl-Lösung, die in betreff der Glucose 3,5% betrug, war das Blutkörperchenvolumen

[1]) In betreff der Erklärung dafür verweise ich auf eine spätere Abhandlung.

5	Minuten	nach	der	Vermischung	. . . 86
1	Stunde	„	„	„	. . . 87
20	Stunden	„	„	„	. . . 104
46	„	„	„	„	. . . 110

Daraus ersieht man wieder, daß der Ausgleich nicht nach 46 Stunden erledigt ist (in dem Falle müßte das Volumen 117 betragen), ferner kann man ungefähr berechnen, daß das Volumen, welches die Blutkörperchen sowohl nach 5 als nach 60 Minuten einnehmen, dasjenige ist, das man zu erwarten hätte, wenn keine oder fast keine Glucose zu dem Zeitpunkt in die Blutkörperchen hineingedrungen wäre. Die Gefrierpunktdepression der Lösung beträgt nämlich etwa $0{,}47 + 0{,}37 = 0{,}84°$, was nach dem van 't Hoff-Boyle-Mariotteschen Gesetz ein Blutkörperchenvolumen von etwa 85 ergeben wird.

Vergleichen wir endlich das augenblickliche Blutkörperchenvolumen in der reinen Glucoselösung mit dem Volumen, das die Blutkörperchen annehmen müßten, wenn die Glucose nicht darin eindringt, so stimmt es nahezu mit dem beobachteten Volumen (95,6) überein.

Das Anschwellen und somit das Hineindiffundieren von Glucose, das ja die Ursache des Schwellens sein muß, ist also keineswegs nach 24 Stunden abgeschlossen, ja sogar nach 48 Stunden kann — nach den Volumenuntersuchungen zu urteilen — das Gleichgewicht noch bei weitem nicht erreicht sein; sieht man von der Hämolyse ab und veranschlagt man die disperse Phase des Blutkörperchens zu 40%, so kann die Zuckertension der inneren Flüssigkeit nach 48 Stunden in Prozenten ungefähr aus der der äußeren Flüssigkeit oder der Gleichung

$$100\,(100 \div 40) = x\,(148 \div 40);\ X = 56$$

berechnet werden. x ist hier die anscheinend osmotische Zuckertension in der äußeren Flüssigkeit. Da die Zuckertension der äußeren Flüssigkeit aber konstant geblieben ist, bedeutet das, daß die Zuckertension des Blutkörperchens $100 \div 56 = 44$ betragen muß.

Die Zuckertension im Blutkörperchen ist also nach 48 Stunden nur etwa halb so groß, wie die Zuckertension in der äußeren Flüssigkeit.

Inwiefern die Hämolyse, welche bei Aufschwemmung von Menschenblutkörperchen in isosmotischen Lösungen nach 24 bis 48 Stunden einsetzt, eine osmotische Schwellungshämolyse ist oder als spontane Hämolyse bezeichnet werden muß, ist schwer zu entscheiden. Die Eindringungsgeschwindigkeit der Glucose ist so gering, daß das Eintreten der Schwellungshämolyse erst nach etwa 2 mal 24 Stunden zu erwarten ist, aber zu derselben Zeit wird in den meisten Lösungen eine spontane Hämolyse eintreten.

Wir stehen daher der anscheinend eigentümlichen Erscheinung gegenüber, daß sich nicht mit Sicherheit sagen läßt, ob Menschenblutkörperchen in isosmotischen Glucoselösungen einer osmotischen Hämolyse unterliegen werden, obschon die Glucose in sie eindringt; dieses eigentümliche Verhältnis wird scheinbar zu einem unlösbaren Problem, wenn man die Aufmerksamkeit auf die direkten Zuckeranalysen richtet und — bei niedrigen Zuckerkonzentrationen — zwischen Blutkörperchen und Plasma bei 1stündigem Stehenlassen mit Zucker-Plasma eine Glucoseverteilung von 70—75% findet. Denn eine solche Verteilung müßte den Wassermengen gemäß eine vollständige Ausgleichung bedeuten und daher, wenn man das Verhältnis auf reine Glucoselösungen überträgt, in weit weniger als 1 Stunde eine Gesamthämolyse bewirkt haben.

Durch die oben angeführte Hypothese, nach der die Glucose teils chemisch gebunden oder an das Blutkörperchen adsorbiert wird, teils ganz langsam eindringt, erklärt sich gleichfalls, weshalb die Blutkörperchen nicht in isosmotischen Glucoselösungen hämolysieren.

Es liegt nun auf der Hand, zu fragen, wie Masing finden kann, daß das Gleichgewicht bereits nach einer Stunde eingetreten ist, wenn dies in den beiden ebengenannten von mir angestellten Versuchen nicht der Fall war. Die Erklärung dieser Divergenz liegt wahrscheinlich in der sehr ungleichen Zuckerkonzentration der äußeren Flüssigkeit in den verschiedenen Versuchen. Geht man davon aus, daß das langsame Schwellen sowie die langsame Zunahme des Zuckerprozentsatzes in dem Blutkörperchen von einer tatsächlichen Hineindiffusion von Zucker herrührt, so können wir die Diffusionsgeschwindigkeit der Glucose berechnen.

Da nun das Hineindiffundieren einer Glucosemenge, bis die Zuckertension in den Blutkörperchen etwa halb so groß geworden ist wie in der äußeren Flüssigkeit, 48 Stunden in Anspruch nimmt, auch wenn der Zuckertensionsdifferenzdruck ein sehr hoher ist (in obengenannten Versuchen von etwa 7 bis etwa 3 Atm. schwankend), so folgt daraus, daß die Geschwindigkeit, mit der die Glucose in das Blutkörperchen eindringt, wenn die Zuckerkonzentration in der äußeren Lösung nur um 0,0—0,3% gesteigert worden ist, etwa 0,1—0,4 Atm. entsprechend, eine so langsame sein wird, daß sie sich leicht der analytischen Bestimmung entzieht; in dem einzigen Versuch, den ich daraufhin anstellte, betrug die Zuckertension der äußeren Flüssigkeit etwa 0,7%, aber hier trifft man auch eine eben bemerkbare Steigerung des Verteilungsverhältnisses nach etwa 22 Stunden.

Im ganzen genommen scheinen mir die meisten Versuche die Auffassung in hohem Grade zu befürworten, daß die Glucose teils an die Oberfläche des Menschenblutkörperchens adsorbiert oder absorbiert wird, teils in das Blutkörperchen eindringt. Die Adsorption geht schnell vonstatten und verhältnismäßig in um so viel höherem Grade, je geringer die Zuckertension der äußeren Lösung ist, ferner in um so viel höherem Grade, je größer die disperse Phase des Blutkörperchens ist; die Absorption ist ohne Einfluß auf das Blutkörperchenvolumen.

Die Hineindiffusion der Glucose geht sehr langsam vonstatten. Die hineindiffundierte Glucose löst sich in der Wasserphase des Blutkörperchens und ist osmotisch aktiv, was sich durch ein langsames Schwellen des Blutkörperchens zu erkennen gibt.

Rein a priori ist es nicht unwahrscheinlich, daß die Glucose an die Oberfläche des Blutkörperchens adsorbiert wird; von dieser Oberfläche ist anzunehmen, daß sie zu einem sehr großen Teil aus Lipoiden besteht — darunter sicherlich aus Lecithin — und von diesem Stoff wissen wir, daß er mit Glucose Additionsverbindungen bilden kann.

Allerdings ist die von Henriques[1]) und namentlich von Bing[2]) ausgesprochene Annahme, daß nicht die ganze normal

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **23**.

[2]) Dissertation, Kopenhagen 1899.

vorkommende Blutzuckermenge frei, sondern teilweise als eine Lecithin-Glucoseverbindung (Jekorin) vorhanden sei, von den meisten Forschern aufgegeben worden; es wird aber andererseits allgemein zugegeben, daß eine Additions- (oder eine Adsorptions-) verbindung zwischen Lecithin und Glucose muß gebildet werden können[1]).

Ich finde es daher nicht unwahrscheinlich, daß wir einer solchen Verbindung gegenüberstehen. Das Unwahrscheinliche oder vielmehr das Sonderbare ist, daß dies nur von Menschenblutkörperchen gilt.

Daß die Glucose auch in die Blutkörperchen eindringt, an deren Oberfläche sie sich adsorbieren läßt oder in die sie absorbiert wird, scheint mir dagegen recht natürlich.

Wie bereits früher erwähnt, bietet diese Annahme bei weitem nicht eine Erklärung aller Verhältnisse dar. Von ungelösten Problemen ist zuvörderst die Frage der Existenzform des normal vorkommenden Blutkörperchenzuckers zu nennen; ist es an die Oberfläche gebunden oder in freier Lösung in der Blutkörperchenflüssigkeit vorhanden, oder findet es sich in beiden Weisen? Diese Frage selbst, sowie alle naturgemäß daran anknüpfenden Fragen finde ich nicht zweckmäßig hier zu erörtern.

Ich führe daher nur an, daß diese Frage nach Abschluß meiner Arbeit von verschiedenen Seiten behandelt worden ist.

So meinen Falta und Richter-Quittner[2]), dargetan zu haben, daß die Menschenblutkörperchen in dem in Hirudin aufgefangenen Blut für Glucose impermeabel sind, und folgern daraus, daß Menschenblutkörperchen unter normalen Verhältnissen für Glucose impermeabel sind. Wie von einer ganzen Reihe von Untersuchern — Gad-Andresen, Hägedorn, Warburg und Ege[3]) — gezeigt worden ist, halten Falta und Richter-Quittners Analysen einer näheren Nachprüfung nicht Stich[4]).

Brinkman und van Dam[5]) behaupten, daß Froschblut-

---

[1]) Siehe u. a. Ivar Bang, Biochemie der Zellipoide. Ergebnisse der Physiologie **6**. 1907.

[2]) Diese Zeitschr. **100**. 1919.

[3]) Diese Zeitschr. **108**. 1920.

[4]) Diese Zeitschr. **107**. 1920.

[5]) Internat. Arch. d. Physiol. **15**. 1919.

körperchen unter normalen Verhältnissen für Glucose impermeabel sind, daß sie aber infolge der Defibrinierung usw. permeabel werden. Ferner behaupten sie, daß die Permeabilität, die nach dieser Untersuchung und anderen Untersuchungen die Menschenblutkörperchen im Gegensatz zu denen der meisten Tiere charakterisiert, unter normalen Verhältnissen nicht existiert. Die Aufhebung der Impermeabilität ist eine der ersten Veränderungen, welche gleichzeitig mit oder vielmehr vor der Koagulation im Blute eintreten, wenn dies aus dem Gefäßsystem entleert wird. Die Veränderung tritt so früh ein, daß sie stattgefunden hat, auch wenn die Koagulation durch Hirudinzusatz verhindert wird. Diese Untersuchungen sind also keine Bestätigung von Falta und Richter-Quittners Ansicht. Da Brinkman und van Dams Untersuchungen über die Verhältnisse der Menschenblutkörperchen ausschließlich indirekter Natur sind, indem sie nur Bestimmungen des Blutkörperchenvolumens in Lösungen bekannter osmotischer Konzentration mit oder ohne Glucose ausgeführt haben, kann man daraus in der Tat nichts schließen; denn ich habe in dieser Abhandlung durch gleichzeitige Volumenbestimmungen und direkte Glucoseanalysen an den gleichen Proben gezeigt, daß die Menschenblutkörperchen sich in Glucoselösungen nicht so verhalten, wie nach den durch direkte Zuckeranalysen gewonnenen Resultaten zu erwarten wäre, und dieser Umstand hat mich zur Aufstellung der Hypothese veranlaßt, daß die Glucose sowohl in das Blutkörperchen eindringt (wenn auch ganz langsam) als an die Membranphase des Blutkörperchens absorbiert wird. Inwiefern diese Erklärung richtig ist oder nicht, soll hier nicht näher erörtert werden. So viel ist aber durch diese Analysen wenigstens dargetan worden, daß es sich durchaus nicht durch Volumen- und Hämolyseuntersuchungen entscheiden läßt, inwiefern die Glucose an die Blutkörperchen oder das Plasma geknüpft ist, und in welchem Verhältnis diese Verteilung stattfindet.

Zusammenfassung.

1. Eine Reihe von osmotischen Untersuchungen bestätigten das Ergebnis der direkten chemischen Analysen. Die roten Blutkörperchen der Ziege, des Rindes, des Kaninchens sowie des Hundes sind impermeabel für Glucose.

2. Entsprechende Untersuchungen zeigten dagegen, daß die roten Blutkörperchen des Menschen permeabel für Glucose sind.

3. Die Permeabilitätsgeschwindigkeit ist — im Gegensatz zu dem, was nach den chemischen Analysen zu erwarten wäre — sehr gering.

4. Diese Divergenz läßt sich erklären, wenn man annimmt, daß die Glucose, außerdem daß sie in das Blutkörperchenhäutchen eindringt, an dasselbe gebunden oder adsorbiert wird.

Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

U.C. MEDICAL CENTER LIBR.
JAN 2 1962
San Francisco, 22

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, **C. von Noorden**-Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **F. Czapek**-Berlin, **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **J. Feigl**-Hamburg, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **H. Freundlich**-Berlin-Dahlem, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **P. Hári**-Budapest, **E. Hägglund**-Åbo, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **V. Henriques**-Kopenhagen, **R. O. Herzog**-Berlin-Dahlem, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **A. Koch**-Göttingen, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Greifswald, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molisch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **E. Münzer**-Prag, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **P. Rona**-Berlin, **H. Sachs**-Heidelberg, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **A. Scheunert**-Berlin, **N. Sieber**-St. Petersburg. **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Liestal, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **K. Suto**-Kanazawa, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **P. Trendelenburg**-Rostock, **O. Warburg**-Berlin, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundvierzehnter Band

Drittes bis viertes Heft

Ausgegeben am 12. Februar 1921

Berlin
Verlag von Julius Springer
1921

Die **Biochemische Zeitschrift**

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 48.—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens 2 Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Redakteur,

Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,

zu richten.

Die Verfasser erhalten 60 Sonderabdrücke ihrer Abhandlungen kostenfrei, weitere gegen Berechnung. Für den 16seitigen Druckbogen wird ein Honorar von M. 40.— gezahlt.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

---

114. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 3./4. Heft.

Seite

Völtz, W., Dietrich, W. und **A. Deutschland.** Die Verdaulichkeit und Verwertung der Nährstoffe des Ölpilzes (Endomyces vernalis Ludwig) durch Carnivoren und Herbivoren (Wiederkäuer) . . . 111

Starlinger, Wilhelm. Über Agglutination und Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten 129

Falta, W. und **M. Richter-Quittner.** Über die chemische Zusammensetzung der Blutkörperchen 145

Jacoby, Martin. Über die auxoureatische Funktion des Serums . . 152

Bornstein, A. Über Adrenalinglykämie 157

Lang, S. und **H. Lang.** Über den Einfluß von Fluornatrium auf die Wirkung der Pankreasdiastase 165

Meyer, Hans. Studien zur Methodik der refraktometrischen Serumuntersuchung auf Abwehrfermente (Mikro-Abderhalden-Reaktion) 194

Zandrén, Sven. Die Tageskurve der Stalagmone 211

Die Verdaulichkeit und Verwertung der Nährstoffe des Ölpilzes (Endomyces vernalis Ludwig) durch Carnivoren und Herbivoren (Wiederkäuer).

Von

W. Völtz, W. Dietrich und **A. Deutschland.**

(Mitteilung aus der Ernährungsphysiologischen Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 26. November 1920.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Mikroorganismen sind in Nahrungs- und Futtermitteln stets vorhanden. Das ist verbürgt durch ihre überaus starke Verbreitung in der Natur. Vielen Kleinlebewesen kommt eine besondere Bedeutung für die Ernährungsprozesse zu.

So vermögen z. B. die höheren Tiere manche Nährstoffe, insbesondere die Cellulose überhaupt nur mit Hilfe bestimmter Bakterien auszunützen. Die Pflanzenfresser haben sich durch besondere Einrichtungen, die sie in ihrem Verdauungsapparat besitzen (z. B. die Vormägen der Wiederkäuer, der Blinddarm des Pferdes usw.), in sehr vollkommener Weise der Symbiose mit Mikroorganismen angepaßt. Daß viele Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel durch die Tätigkeit bestimmter Kleinlebewesen erzeugt werden (z. B. alkoholische Getränke, milchsaure Nahrungs- und Futtermittel, Essig, Yoghurt, Kefir, Käse usw.), sei hier ebenfalls erwähnt. Mit den genannten Nahrungsmitteln werden auch die Erreger der betreffenden Gärung in gewissen Mengen genossen. So enthalten z. B. das Bier und das Brot Hefe, der Yoghurt, der Sauerkohl und das Sauerfutter usw. Milchsäurebakterien usw. Im Chymus enthaltene abgestorbene Leiber der Mikroorganismen werden zum Teil durch die Tierkörper resorbiert und dienen als Nahrungsmittel, zum Teil werden Kleinlebewesen lebend und abgestorben mit den Faeces ausgeschieden. Wie chemische Untersuchungen ergeben haben, ist der Gehalt vieler Kleinlebewesen an Nährstoffen recht hoch. In neuerer Zeit sind bestimmte Mikroorganismen in isolierter Form gewonnen bzw. im großen reingezüchtet worden und dienen als wertvolle Nahrungs- und Futtermittel. Hervorzuheben sind hier vor allem die Brauerei- und die sog. Mineralhefe. Erstere ist ein Nebenprodukt der Bierbrauerei, welches früher zumeist ungenützt verloren ging. In neuerer Zeit wird die als Nahrungs- (entbittert)

und Futtermittel gleich wertvolle Brauereihefe durch die Überführung in Trockengut von unbegrenzter Haltbarkeit vielfach gewonnen. Ähnlich wertvoll sind die nach dem Verfahren des Instituts für Gärungsgewerbe in Lösungen von schwefelsaurem Ammoniak, bestimmten anderen Salzen und Zucker gezüchteten als sog. Mineralhefe bezeichneten Heferassen. Die Trockenhefen enthalten im großen Durchschnitt ungefähr 10% Wasser, 90% Trockensubstanz, 8% Asche, 82% organische Substanz, 50% Rohprotein, 4% Rohfett und 28% Kohlenhydrate. In Stoffwechselversuchen wurde folgende Verdaulichkeit für die Hefenährstoffe gefunden[1]):

	Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Kohlenhydrate %	Calorien %	Physiologischer Nutzeffekt %
Brauereihefe (Versuch am Menschen)	90	86	70	100	88	75
Brauereihefe (Versuch am Hunde)	78	89	75	52	79	69
Mineralhefe (Versuch am Hunde)	71	84	40	52	72	60

Die Hefen zeichnen sich durch ihren hohen Proteingehalt aus, annähernd die Hälfte ihrer organischen Substanz besteht aus verdaulichem Eiweiß.

Während des Krieges machte sich der Mangel an bestimmten Nährstoffen stark geltend, und besonders fehlte es im Laufe der Zeit immer mehr an Fett, das außerdem noch in sehr großem Umfange von der Industrie, speziell der Kriegsindustrie, benötigt wurde. Von der Leitung des Instituts für Gärungsgewerbe wurde die Fettgewinnung aus Mikroorganismen in die Wege geleitet, nachdem P. Lindner den großen Fettreichtum mancher Arten, insbesondere des Endomyces vernalis Ludwig nachgewiesen hatte. Dieser Pilz kann bis zu etwa der Hälfte seiner Trockensubstanz an Fett enthalten, das dem Olivenöl sehr ähnlich ist. Der Endomyces wurde im Jahre 1891 von Ludwig in vielen Baumsäften (Milchfluß) entdeckt. Über seine botanischen Merkmale hat uns Herr Prof. Lindner freundlichst folgende Angaben gemacht.

Der Pilz gehört zu den Endomyceten, er vermehrt sich teils durch Sprossung, wie Hefen, teils durch Spaltung, wie Oidium und Spalthefen (Schizosaccharomyceten) und drittens wie Fadenpilze (bildet Mycelien).

[1]) Die Literatur siehe unter W. Völtz, Die Verwertung der Hefe als Nährmittel für Mensch und Tier. Die Naturwissenschaften 1916, Heft 47.

Die Größe ist überaus wechselnd, sie beträgt im Durchschnitt etwa 9 μ Länge und 6 μ Breite. Zum Vergleich sei erwähnt, daß die Hefen im Durchschnitt etwa 9—12 μ lang und 6—8 μ breit sind.

Die Hefeform des Endomyces hat hiernach die Größe der elliptischen Hefe (Saccharomyces ellipsoideus). Die Aufschließung des Zelleninhaltes dieses Pilzes durch chemische Agenzien wird sehr erschwert durch die Widerstandsfähigkeit seiner Membran.

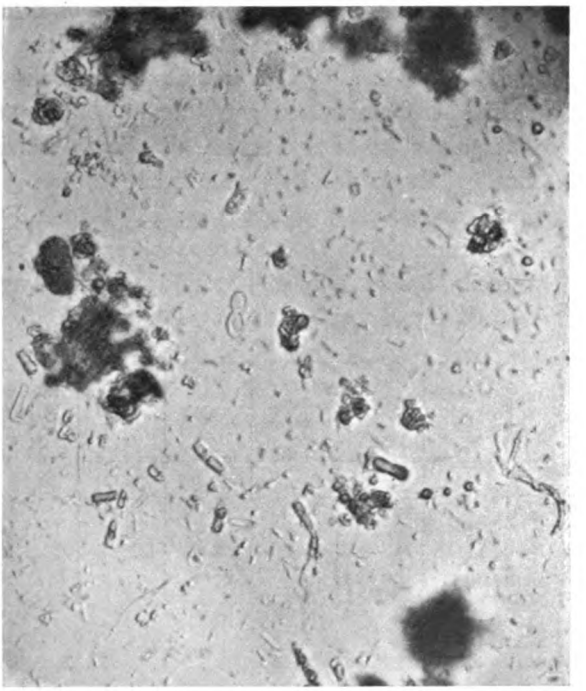


Abb. 1. Hundekot mit Endomyces vernalis. 500fach.

Es bedarf starker Säuren oder Alkalien zur Zerstörung der Zellmembranen und zur Freilegung des Inhaltes. Auch mechanisch läßt sich der Pilz nur sehr schwer aufschließen; den Homogenisierungsapparat passieren die Zellen unverletzt, ebenso werden sie beim Eintragen in Fett bei 150° nicht gesprengt. Nach den mikroskopischen Untersuchungen Lindners wird ein gewisser Prozentsatz des Endomyces nach Passieren des Verdauungsapparates bei Carnivoren und Omnivoren unverändert im Kot ausgeschieden. Das vorstehende Mikrophotogramm Lindners zeigt Ölpilzzellen in Hundefaeces bei 500facher Vergrößerung in der Spalthefeform.

Im Wiederkäuerkot ließ sich der Pilz auch nach der Verfütterung von großen Mengen kaum nachweisen. Durch Mahlen mit Porzellankugeln und Seesand in Kugelmühlen wird er vollständig zertrümmert. Der Pilz gedeiht am besten an der Oberfläche zuckerhaltiger Lösungen in Gegenwart bestimmter stickstoffhaltiger Verbindungen und Mineralsubstanzen. Er wurde bisher in flachen Schalen gezüchtet, die zu etwa 1 cm Höhe mit der Nährlösung beschickt wurden. Sein Wachstumsoptimum liegt etwa bei 20°. Die geernteten Pilzmassen, welche ca. 15% Trockensubstanz enthalten, werden in bekannter Weise auf mit Dampf durchleiteten Stahlwalzen getrocknet. Für die trockene Pilzmasse fanden wir in zwei Proben, die beide aus Material stammten, das im Laufe der Zeit aus vielen Ernten gewonnen worden war, folgende Zusammensetzung: Die beiden Präparate enthielten 91,50 und 93,75% Trockensubstanz. In der nachstehenden Tabelle haben wir die gefundenen Analysenzahlen auf 90 und 100% Trockensubstanz berechnet.

	Trockensubstanz %	Asche %	Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Kohlenhydrate %	Calorien in 100 g
Endomyces vernalis	90	3,81	86,19	20,12	23,58	42,49	515,9
	90	4,69	85,31	21,56	26,70	37,05	517,9
Mittel	90	4,25	85,75	20,84	25,14	39,77	516,9
Mittel auf 100 Trockensubstanz berechnet	**100**	**4,72**	**95,28**	**23,16**	**27,93**	**44,19**	**574,3**

Hiernach überwiegen mit rund 45% die Kohlenhydrate; an zweiter Stelle folgt mit 25—30% das Fett (vorwiegend Olein), dessen Gehalt in neuester Zeit noch wesentlich über den hier angegebenen Wert gesteigert worden ist (bis 44%); der Proteingehalt beträgt ungefähr $^1/_5$—$^1/_4$ der Trockensubstanz, der Aschegehalt ist relativ gering, Rohfaser ist nicht vorhanden.

Der frischgeerntete Ölpilz besitzt einen etwas fettigen Geschmack fast ohne jedes Auftreten bestimmter charakteristischer Geschmacksstoffe. Er hat daher auch keinerlei unangenehmen Geschmack und könnte selbst ohne Zutaten und ohne küchenmäßige Zubereitung vom Menschen genossen werden. Auch nach Aufnahme des Ölpilzes in erheblichen Mengen durch längere Zeit konnten nachteilige Wirkungen nicht beobachtet werden.

Sofern die Verdaulichkeit der Nährstoffe des Ölpilzes ungefähr derjenigen der Hefe entsprechen würde, müßte der Endomyces besonders nährstoffreich sein. Die Frage nach der Verdaulichkeit und dem Nährwert dieses Pilzes konnte natürlich nur durch direkte Ausnutzungsversuche beantwortet werden. Wir haben dieselben am Hunde und am Wiederkäuer angestellt und teilen nachstehend die Ergebnisse mit. Es gelangten folgende Versuche zur Durchführung:

A. Versuche an Hunden.

1. Versuch mit unverletzten Ölpilzzellen.

Der Ölpilz wurde als Zulage zu Fleisch gereicht, dessen Verdaulichkeit und Ausnutzung vorher gesondert bestimmt worden war (S. 116).

2. Versuch mit in einer Kugelmühle zertrümmerten Pilzzellen.

Auch hier wurde der Ölpilz als Zulage zu Fleisch in den gleichen Mengen verabfolgt (S. 119).

3. Versuch.

Bestimmung der Verdaulichkeit des isolierten Pilzfettes, das ebenfalls als Zulage zu Fleisch gegeben wurde (S. 122).

B. Versuche am Hammel.

1. Periode (Grundfutter).

Das Tier erhielt ausschließlich Rieselfelderheu (S. 124).

2. Periode.

Der Hammel erhielt das Grundfutter (Rieselfelderheu) und eine Fettpilzzulage (S. 125).

A. Versuche an Hunden.

Mit dem Fleisch, welches in den folgenden Perioden als Grundfutter diente, gelangte ein viertägiger Ausnutzungsversuch an einem männlichen 16,9 kg schweren Hunde zur Durchführung. Das Tier erhielt täglich 500 g Fleisch mit 121,15 g Trockensubstanz, 16,10 g Stickstoff und 669,5 Calorien. Der Urin wurde täglich durch Katheterisieren abgegrenzt. Über die Versuchsergebnisse mögen hier nur folgende Angaben gemacht sein[1]):

[1]) W. Völtz, Über die Ausnutzung der in Zucker und anorganischen Salzen gezüchteten Hefe durch den tierischen Organismus. Vortrag in der Berliner Physiologischen Gesellschaft am 9. Juli 1915. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 33. 1915. Siehe auch A. Deutschland, Untersuchungen über die Verdaulichkeit der Nährhefe. Diese Zeitschr. 78, 362. 1917.

Das Fleisch enthielt:

Trockensubstanz %	Asche %	Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Kohlenhydrate %	Calorien in 100 g
24,23	1,13	23,10	20,13	2,25	0,72	133,9
Die Nährstoffe des Fleisches wurden zu folgenden Prozentsätzen resorbiert.						
93,4	—	93,1	96,3	90,3	(53,3)	94,1

Der physiologische Nutzeffekt des Fleisches betrug 71,7% seines Energiegehaltes.

1. Versuch mit dem Ölpilz (Zellen unverletzt).

Zu demselben diente eine 10,5 kg schwere Hündin.

Der Endomyces wurde dem in Gläsern sterilisiert aufbewahrten Fleisch täglich sorgfältig untermischt. Der getrocknete Ölpilz stammte aus mehreren Ernten und hatte folgende Zusammensetzung:

Trockensubstanz %	Asche %	Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Kohlenhydrate %	Calorien in 100 g
91,50	3,87	87,63	20,44	23,98	43,21	524,5

Die Futteraufnahme war stets eine regelmäßige. Die Beschaffenheit der Faeces war normal. Die Abgrenzung des Kotes wurde hier wie auch bei den weiteren Versuchen durch Knochen bewirkt. Über den Stickstoffumsatz und -ansatz während der Ölpilzperiode gibt die nachstehende Tabelle Aufschluß.

Versuchsdauer: Vom 24. Juni bis 30. Juni 1916.

Versuchstier: Hündin Nr. 2.

Das Tier verzehrte täglich:

als Grundfutter:

166,67 g Fleisch mit 40,38 g Trockensubstanz, 5,37 g N und 223,2 Cal

als Zulage:

50 g Ölpilz „ 45,75 g „ 1,63 g N „ 262,3 „

Summa 86,13 g Trockensubstanz 7,00 g N und 485,5 Cal

Tabelle I.

Datum Juni 1916	Stickstoffausscheidung im Harn g	im Harn % der Zufuhr	im Kot g	im Kot % der Zufuhr	Summa g	Summa % der Zufuhr	N-Ansatz g	N-Ansatz % der Zufuhr	Gewicht des Tieres
24./25.	5,41	77,2	0,79	11,3	6,20	88,5	+0,80	+11,5	10,55
25./26.	6,94	99,1	0,79	11,3	7,73	111,4	−0,73	−11,4	
26./27.	6,08	86,9	0,79	11,3	6,87	98,2	+0,13	+ 1,8	
27./28.	6,49	92,7	0,79	11,3	7,28	104,0	−0,28	− 4,0	
28./29.	6,30	90,0	0,79	11,3	7,09	101,3	−0,09	− 1,3	
29./30.	7,10	101,4	0,79	11,3	7,89	112,7	−0,89	−12,7	10,25
im Mittel pro Tag	**6,39**	**91,3**	**0,79**	**11,3**	**7,18**	**102,6**	**−0,18**	**− 2,6**	**10,40**

Das Rohprotein wurde also zu 88,7% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,67 g N und 46,7 Calorien.

Die tägliche Gewichtsabnahme betrug im Mittel 50 g.

Das Tier befindet sich annähernd im Stickstoffgleichgewicht.

Der Gesamtkot wog lufttrocken 141,0 g und enthielt in Prozenten:

Trocken-substanz %	Asche %	Organische Substanz %	Roh-protein %	Rohfett %	Kohlen-hydrate %	Calorien in 100 g
96,25	11,32	84,93	20,94	23,07	40,92	507,1

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Lufttrockener Kot	Trocken-substanz	Asche	Organische Substanz	Roh-protein	Rohfett	Kohlen-hydrate	Calorien
23,50	22,62	2,66	19,96	4,92	5,42	9,62	119,2

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte der vorliegenden Periode.

Tabelle II.

	Trocken-substanz	Organische Substanz	Roh-protein	Rohfett	Kohlen-hydrate	Calorien
166,67 g Fleisch	40,38	38,50	33,55	3,75	1,20	223,2
500 g Ölpilz	45,75	43,82	10,22	11,99	21,61	262,3
Summa:	86,13	82,32	43,77	15,74	22,81	485,5
Der Kot enthielt:	22,62	19,96	4,92	5,42	9,62	119,2
Somit resorbiert g	63,51	62,36	38,85	10,32	13,19	366,3
Somit resorbiert %	78,8	75,8	88,8	65,6	57,8	75,4

Die Verdauungswerte für den Ölpilz sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle III.

	Trocken-substanz	Organische Substanz	Roh-protein	Rohfett	N-freie Extrakt-stoffe	Calorien
In den Faeces der Hauptperiode g	22,62	19,96	4,92	5,42	9,62	119,2
In den Faeces der Grundfutterperiode g . . .	2,69	2,16	1,24	0,36	0,56	13,2
Mehr in den Faeces der Hauptperiode g . .	19,93	17,80	3,68	5,06	9,06	106,0
Die Ölpilzzulage enthielt g	45,75	43,82	10,22	11,99	21,61	262,3
Also von dem Ölpilz resorbiert g	25,82	26,02	6,54	6,93	12,55	156,3
Also von dem Ölpilz resorbiert %	56,4	59,4	64,0	57,8	58,1	59,6

Um den Umfang der Verdaulichkeit des Ölpilzes zu veranschaulichen, führen wir nachstehend zum Vergleich die Ver-

dauungswerte für die entbitterte Brauereihefe auf; diese war ebenfalls als Zulage zu Fleisch an einen Hund verfüttert worden (siehe die Anm. 1 auf S. 112).

	Trocken-substanz	Organische Substanz	Roh-protein	Rohfett	N-freie Extrakt-stoffe	Calorien
Verdauungswerte für die entbitterte Brauereihefe	78,5	76,8	89,0	75,2	51,6	78,9
Die Verdauungswerte d. Brauereihefe waren also höher (+) bzw. niedriger (−) um: .	+39,2	+29,2	+39,1	+30,1	−11,2	+32,4

Die Verdauungswerte für die Nährstoffe des Ölpilzes sind also für die organische Substanz um rund 22,7%, für das Rohprotein um 28,1% und für das Rohfett um 23,1% niedriger als bei der Brauereihefe. Nur die Kohlenhydrate des Endomyces wurden um rund 12,6% höher resorbiert. Als eine Ursache für die relativ zur Brauereihefe ungünstigere Verdaulichkeit der Nährstoffe des Ölpilzes kommt in Betracht, daß ein gewisser Prozentsatz der Zellen nach den mikroskopischen Untersuchungen von P. Lindner den Verdauungskanal des Hundes unverletzt passierten. In der Hauptsache muß jedoch die chemische Natur der Nährstoffe des Endomyces für ihre im Vergleich zur Brauereihefe wesentlich schlechtere Resorbierbarkeit verantwortlich gemacht werden. Das geht überzeugend aus den später zu besprechenden Versuchen am Wiederkäuer hervor; der Hammel verdaute nämlich, obgleich die Bakterien in seinen Vormägen die Zellhaut des Ölpilzes lösen, also den Zellinhalt freilegen, die organische Substanz des Endomyces um 20,3% und das Rohprotein um 25,7% schlechter als die genannten Nährstoffe der Brauereihefe.

Energieumsatz:

Einnahmen pro Tag		485,5 Cal
Ausgaben pro Tag:		
Im Kot	119,2 Cal = 24,6% der Zufuhr	
Im Harn	67,6 „ = 13,9% „ „	
Summa	186,8 Cal = 38,5% der Zufuhr	= 186,8 Cal
Somit beträgt der physiologische Nutzwert		298,7 Cal
entsprechend 61,5% der Zufuhr		

Calorischer Quotient $\frac{\text{Harn} - \text{Cal}}{\text{Harn} - \text{N}} \frac{67,6}{6,39} = 10,6$.

Physiologischer Nutzwert der Ölpilzzulage:

In Faeces und Harn der vorliegenden Ölpilzperiode	186,8 Cal
„ „ „ „ „ Grundfutter- (Fleisch-) Periode . . .	63,2 „
Somit mehr in der Hauptperiode	123,6 Cal
Die Ölpilzzulage enthielt	262,3 Cal
Somit beträgt der physiologische Nutzwert des Ölpilzes . . .	138,7 Cal
= 52,9%	
bzw. auf das Stickstoffgleichgewicht berechnet 49,6%.	

Der physiologische Nutzwert der entbitterten Brauereihefe betrug nach dem mitgeteilten Versuch am Hunde 69,2%, war also bei der Bierhefe um 30,8% höher als bei dem Endomyces.

2. Versuch mit zertrümmerten Ölpilzzellen.

Eine Ursache der z. B. im Vergleich zur Brauereihefe ungünstigen Verdaulichkeit der Nährstoffe des Endomyces war in dem erwähnten Übergang unverletzter Ölpilzzellen in den Kot nach der Verfütterung von Endomyces zu suchen. Gelang die Zertrümmerung sämtlicher Zellen, so war ihre entsprechend höhere Verdaulichkeit zu erwarten. Um eine möglichst vollständige Zertrümmerung des Endomyces zu erreichen, brachten wir denselben nochmals 2 Tage lang bei etwa 90° C in den Trockenschrank. Der Pilz wurde hierdurch brüchiger, so daß die nun folgende Vermahlung mit Porzellankugeln in Kugelmühlen vollen Erfolg hatte. Die Substanz wurde infolge des Austrittes von Fett dunkel gefärbt, unverletzte Zellen ließen sich mikroskopisch nicht mehr nachweisen. Dieses Präparat hatte folgende Zusammensetzung:

Trockensubstanz %	Asche %	Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Kohlenhydrate %	Calorien in 100 g
95,80	9,00*)	86,80	20,30	27,28	39,22	541,4

*) Der im Vergleich zu anderen Analysen hohe Aschegehalt ist durch Porzellanstaub bedingt, der beim Mahlen von den Kugeln abgerieben und dem Ölpilz untermischt wurde.

Mit diesem vermahlenen Ölpilz wurde an dem gleichen Hund, der zu dem vorigen Versuch gedient hatte, ein Ausnutzungsversuch angestellt. Auch bei diesem Versuch erhielt das Tier den Endomyces als Zulage zu Fleisch (166,7 g Fleisch und 50 g Ölpilz).

Auf eine Bestimmung des Stickstoff- und Energiegehaltes im Harn wurde hier verzichtet. Über die Verdaulichkeit der Nährstoffe des Gesamtfutters sowie der Ölpilzzulage geben die nachstehenden Tabellen Aufschluß.

Versuchsdauer: Vom 6. bis 9. November 1916.
Versuchstier: Hündin Nr. 2 (Gewicht 9,0 kg).
Das Tier verzehrte täglich:

als Grundfutter:

166,67 g Fleisch mit 40,38 g Trockensubstanz, 5,37 g N und 223,2 Cal

als Zulage:

50,0 g Ölpilz	„ 47,79 g	„	1,62 g N	„ 270,7 „
Summa	88,17 g Trockensubstanz,		6,99 g N	und 493,9 Cal

Der Kot wog lufttrocken 89,2 g und enthielt in Prozenten:

Trocken-substanz %	Asche %	Organische Substanz %	Roh-protein %	Rohfett %	Kohlen-hydrate %	Calorien in 100 g
92,10	23,00	69,10	25,80	8,24	35,06	380,9

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Lufttrokener Kot	Trocken-substanz	Asche	Organische Substanz	Roh-protein	Rohfett	Kohlen-hydrate	Calorien
29,73	27,38	6,84	20,54	7,67	2,45	10,42	113,3

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte der vorliegenden Periode.

Tabelle IV.

	Trocken-substanz	Organische Substanz	Roh-protein	Rohfett	Kohlen-hydrate	Calorien
166,67 g Fleisch	40,38	38,50	33,55	3,75	1,20	223,3
500 g Ölpilz	47,79	43,40	10,15	13,64	19,61	270,7
Summa	88,17	81,90	43,70	17,30	20,81	493,9
Der Kot enthielt:	27,38	20,54	7,67	2,45	10,42	113,3
Somit resorbiert g	60,79	61,36	36,03	14,85	10,39	380,6
Somit resorbiert %	**69,0**	**74,9**	**82,5**	**85,8**	**49,9**	**77,0**

Die Verdauungswerte für den Ölpilz (Zellen zertrümmert) sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich:

Tabelle V.

	Trockensubstanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Kohlenhydrate	Calorien
In den Faeces der Hauptperiode g	27,38	20,54	7,67	2,45	10,42	113,3
In d. Faeces d. Grundfutter(Fleisch-)periode g	2,69	2,16	1,24	0,36	0,56	13,2
Mehr in den Faeces der Hauptperiode g . . .	24,69	18,38	6,43	2,09	9,86	100,1
Die Ölpilz-Zulage enthielt g	47,79	43,40	10,15	13,64	19,61	270,7
Also vom Ölpilz resorbiert g	23,10	25,02	3,72	11,55	9,75	170,6
Also vom Ölpilz resorbiert %	48,4*)	57,7	36,7	84,7	49,7	63,0

Die Nährstoffe der unverletzten Zellen waren zu den folgenden Prozentsätzen verdaulich (siehe Seite 117).

56,4	59,4	64,0	57,8	58,1	59,6

Die Verdaulichkeit für die Nährstoffe der zerriebenen Ölpilzzellen war also höher (+) bezw. niedriger (−) um:

−14,2	−2,9	−42,7	+46,6	−14,5	+5,7

*) Der relativ zu der organischen Substanz niedrige Verdauungswert für die Trockensubstanz ist durch den erheblichen Gehalt an Porzellanstaub in dem vermahlenen Ölpilz bedingt.

Die Resorption der organischen Substanz ist durch die Zertrümmerung der Zellen unbeeinflußt geblieben; diese Übereinstimmung kommt kompensatorisch dadurch zustande, daß bei dem vorliegenden Versuch das Protein wesentlich schlechter, das Fett dagegen entsprechend höher verdaut worden ist, als bei dem früheren Versuch mit den unverletzten Pilzzellen. Die starke Verdauungsdepression des Rohproteins ist dadurch bedingt, daß die wiederholte und etwa 2 Tage lang fortgesetzte Trocknung des Endomyces bei 90° eine Denaturierung der Eiweißkörper zur Folge hatte. Die Resorbierbarkeit der Kohlehydrate wurde gleichfalls etwas beeinträchtigt, die des Fettes dagegen um 46,6% erhöht. Wenn wir die Zertrümmerung der Zellen vorgenommen hätten, ohne sie zuvor bei hoher Temperatur zu trocknen, was uns leider nicht gelang, dann wären selbstverständlich das Rohprotein und die Kohlenhydrate eher etwas höher verdaut worden als bei den unverletzten Ölpilzzellen.

Die höhere Verdaulichkeit des Fettes erklärt sich daraus, daß Temperaturen, welche das Protein bereits in gewissem Umfange denaturieren, hier weniger nachteilig wirken. Außerdem

war der Anteil an für die Verdauungssäfte zugänglichem Fett durch die Zertrümmerung der Zellen wesentlich erhöht worden.

3. Versuch (mit dem isolierten Fett des Endomyces).

Schließlich haben wir an einem Hunde noch einen Ausnutzungversuch über die Resorbierbarkeit des isolierten Endomycesfettes ausgeführt, das im Gemisch mit demselben Fleisch verabreicht wurde. Wir vermieden bei der Extraktion und Trocknung des Öles höhere Temperaturen. Die Substanz wurde mit Seesand gemischt, in einer Kugelmühle zermahlen und sodann bei 15 bis 20° mit Petroläther extrahiert. Der Petroläther wurde durch Destillation bei vermindertem Druck und einer Temperatur von unter 40° abdestilliert. Das Fett war von gelbbrauner Farbe und enthielt pro 1 g 8,770 Calorien.

Die in dem Stoffwechselversuch erhaltenen Daten bringen wir in den nachstehenden Tabellen.

Versuchsdauer: Vom 8. bis 11. Januar 1917.
Versuchstier: Hündin Nr. 1 (Gewicht 16,0 kg).
Das Tier verzehrte täglich:

als Grundfutter:

166,67 g Fleisch mit 40,38 g Trockensubstanz, 5,37 g N und 223,2 Cal

als Zulage:

15,00 g Ölpilzfett	„ 15,00 g	„	— g N	„ 131,6 „
Sa.	55,38 g Trockensubstanz, 5,37 g N und 354,8 Cal			

Der Kot wog lufttrocken 31,3 g und enthielt in Prozenten:

Trockensubstanz %	Asche %	Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Kohlenhydrate %
93,22	21,66	71,56	38,45	22,53	10,58

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Lufttrokkener Kot	Trockensubstanz	Asche	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Kohlenhydrate
10,43	9,72	2,26	7,46	4,01	2,35	1,10

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte der vorliegenden Periode.

Tabelle VI.

	Trocken-substanz	Organische Substanz	Roh-protein	Rohfett	Kohlen-hydrate
166,67 g Fleisch	40,38	38,50	33,55	3,75	1,20
15,00 g Fett aus Ölpilz	15,00	15,00	—	15,00	—
Summa	55,38	53,50	33,55	18,75	1,20
Der Kot enthielt	9,72	7,46	4,01	2,35	1,10
Also resorbiert g	45,66	46,04	29,54	16,40	0,10
Also resorbiert %	**82,4**	**86,1**	**88,1**	**87,5**	**9,1**

Die Verdaulichkeit des Endomycesfettes ist aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle VII.

	Trocken-substanz	Orga-nische Substanz	Roh-protein	Rohfett	Kohlen-hydrate
In den Faeces der Hauptperiode g	9,72	7,46	4,01	2,35	1,10
In den Faeces der Grundfutterperiode g . . .	2,69	2,16	1,24	0,36	0,56
Mehr in den Faeces der Hauptperiode g . . .	7,03	5,3	2,77	1,99	0,54
Die Fettzulage enthielt g	15,00	15,00	—	15,00	—
Also von dem Endomycesfett resorbiert g	7,97	9,70	−2,77	13,01	−0,54
Also von dem Endomycesfett resorbiert %	—	**64,7**	—	**86,7**	—

Das isolierte Fett des Endomyces ist noch ein wenig höher resorbiert worden als das in den zertrümmerten Pilzzellen verabreichte (86,7 gegenüber 84,7%). Dagegen wurde eine erhebliche Verdauungsdepression des Rohproteins und der allerdings nur in kleinen Mengen in dem Grundfutter (Fleisch) enthaltenen Kohlenhydrate beobachtet. Der höhere Gehalt der Faeces der Fettperiode an stickstoffhaltigen Bestandteilen und Kohlenhydraten im Vergleich zu der Grundfutterperiode mit Fleischfütterung dürfte auf eine Vermehrung der Stoffwechselprodukte des Darmes zurückzuführen sein. Zu der Grundfutterperiode diente ein 16,9 kg schwerer männlicher Hund, der täglich 500 g Fleisch bzw. rund 30 g pro Körperkilo erhielt. Die für den vorliegenden Versuch benützte Hündin hatte zwar nahezu dasselbe Gewicht (16,0 kg), sie erhielt jedoch nur 166,67 g Fleisch bzw. rund 10 g pro Körperkilo; es ist daher wahrscheinlich, daß der prozentische Anteil der Stoffwechselprodukte des Darmes an dem Gesamtkot etwas größer gewesen ist als in der Grundfutterperiode; wir möchten daher auf die in der Fettperiode beobachtete Verdauungsdepression des Rohproteins und der Kohlenhydrate keinen Wert legen.

B. Versuche am Wiederkäuer.

Es war oben erwähnt worden, daß die Faeces von Carnivoren und Omnivoren (Menschen) nach Ölpilzgenuß nicht unerhebliche Mengen unverletzter Zellen enthalten, im Wiederkäuerkot gelang der Nachweis von Ölpilzzellen dagegen nicht. Es war wahrscheinlich, daß die Membranen des Endomyces von Mikroorganismen, die ja im Verdauungstraktus des Wiederkäuers eine bedeutende Rolle spielen, zerstört worden waren. Über die Verdaulichkeit der Nährstoffe des Ölpilzes durch Wiederkäuer konnten natürlich nur direkte Ausnutzungsversuche Aufklärung bringen, über die wir nachstehend berichten. Als Versuchstier diente ein ca. 35 kg schwerer Hammel. Als Grundfutter wurden 300 g Rieselfelderheu gereicht. Über diese Periode ist an anderer Stelle berichtet worden[1]). Wir teilen daher hier nur die Zusammensetzung des Heues und die Verdaulichkeit seiner Nährstoffe mit. Der Ölpilz entstammte neuen Ernten. Die Futterstoffe hatten folgende Zusammensetzung:

	Trockensubstanz %	Asche %	Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Rohfaser %	N-freie Extraktstoffe %	Calorien in 100 g
Rieselfelderheu	87,27	12,89	74,38	16,72	2,16	29,48	26,02	388,8
Ölpilz	93,79	4,89	88,90	22,47	27,82	—	38,61	539,7

Periode I.

Grundfutterperiode (Rieselfelderheu).

Dauer des Hauptversuchs 10 Tage.

Versuchstier: Hammel Nr. 12 (mittleres Gewicht 31,6 kg).

Das Tier verzehrte täglich 300 g Rieselfelderheu mit 261,81 g Trockensubstanz, 8,03 g Stickstoff und 1166,4 Calorien.

Der Stickstoffumsatz und -ansatz betrug im Mittel:

Stickstoffausscheidung						Stickstoffansatz	
in Harn		im Kot		Summa			
g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr
5,59	69,6	2,55	31,8	8,14	101,4	−0,11	−1,4

[1]) Völtz, Dietrich und Deutschland, Die Verwertung der Melasseamide im Vergleich zum Eiweiß durch den Organismus des Wiederkäuers. Der Futterwert der Melasseschlempen und des Rieselfelderheus. Landwirtschaftliche Jahrbücher **52**, 451.

Die Nährstoffe des Rieselfelderheues wurden zu folgenden Prozentsätzen resorbiert:

Trockensubstanz %	Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Rohfaser %	N-freie Extraktstoffe %	Calorien
65,8	71,7	68,3	22,2	87,6*)	59,8	71,2

Der physiologische Nutzeffekt betrug 58,5%.

*) Die überraschend hohe Verdaulichkeit der Rohfaser ist durch das frühe Vegetationsstadium, in dem das Rieselfelderheu geschnitten wurde, bedingt.

Periode II.

Rieselfelderheu + Ölpilz.

Vom 31. Januar bis 16. Februar 1917.

Versuchstier: **Hammel Nr. 12.**

Das Tier verzehrte täglich:

als Grundfutter:

300 g Rieselfelderheu mit 261,81 g Trockensubstanz, 8,03 g N und 1166,4 Cal.

als Zulage:

150 g Ölpilz „ 140,68 g „ 5,39 g N „ 809,5 „

Sa. 402,49 g Trockensubstanz, 13,42 g N und 1975,9 Cal.

Tabelle VIII.

Datum 1917 Februar	Stickstoffausscheidung im Harn g	Stickstoffausscheidung im Harn % der Zufuhr	Stickstoffausscheidung im Kot g	Stickstoffausscheidung im Kot % der Zufuhr	Stickstoffausscheidung Summa g	Stickstoffausscheidung Summa % der Zufuhr	N-Ansatz g	N-Ansatz % der Zufuhr	Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g
7.	10,78	80,3	4,41	32,9	15,19	113,2	−1,77	−13,2	39,0	238,5
8.	10,12	75,4	4,41	32,9	14,53	108,3	−1,11	−8,3		439,7
9.	10,05	74,9	4,41	32,9	14,46	107,8	−1,04	−7,8		273,5
10.	10,20	76,0	4,41	32,9	14,61	108,9	−1,19	−8,9		379,0
11.	9,07	67,6	4,41	32,6	13,48	100,5	−0,06	−0,5		238,7
12.	10,51	78,3	4,41	32,9	14,92	111,2	−1,50	−11,2		373,5
13.	9,78	72,9	4,41	32,9	14,19	105,8	−0,77	−5,8		297,8
14.	10,97	81,7	4,41	32,9	15,38	114,6	−1,96	−14,6		304,2
15.	9,48	70,6	4,41	32,9	13,89	103,5	−0,47	−3,5		357,3
16.	10,07	75,0	4,41	32,9	14,48	107,9	−1,06	−7,9	38,0	342,5
im Mittel:	**10,10**	**75,3**	**4,41**	**32,9**	**14,51**	**108,2**	**−1,09**	**−8,2**	**38,5**	**324,5**

Das Rohprotein wurde also zu 67,1% resorbiert.

Pro Kilo Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,348 g N und 51,4 Cal.

Die tägliche Gewichtsabnahme betrug im Mittel 100 g.

Der Kot der vorliegenden Heu-Ölpilzperiode Nr. 2 wog lufttrocken 1424 g und enthielt in Prozenten:

Trockensubstanz %	Asche %	Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Rohfaser %	N-freie Extraktstoffe %	Calorien in 100 g
94,01	26,00	68,01	19,36	9,50	8,96	30,19	389,2

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Luftrockener Kot	Trockensubstanz	Asche	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Calorien
142,4	133,87	37,02	96,85	27,57	13,53	12,76	42,99	554,2

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte der vorliegenden Periode.

Tabelle IX.

Zufuhr		Trockensubstanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Calorien
300 g Rieselfelderheu . .		261,81	223,14	50,16	6,48	88,44	78,06	1166,4
150 g Ölpilz		140,68	133,35	33,70	41,73	—	57,92	809,5
Summa:		402,49	356,49	83,86	48,21	88,44	135,98	1975,9
Der Kot enthielt		133,87	96,85	27,57	13,53	12,76	42,99	554,2
Also resorbiert	g	268 62	259,64	56 29	43,68	75,68	92,99	1421,7
	%	**66,7**	**72,8**	**67,1**	**71,9**	**85,6**	**68,4**	**72,0**

Die Verdauungswerte für den Ölpilz sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich:

Tabelle X.

	Trockensubstanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Calorien
In den Faeces der Hauptperiode II g	133,87	96,85	27,57	13,53	12,76	42,99	554,2
In den Faeces der Periode I g	89,54	63,30	15,91	5,04	10,97	31,38	336,2
Mehr in den Faeces der Periode II g	44,33	33,55	11,66	8,49	1,79	11,61	218,0
					Kohlenhydrate 13,40		
Die Ölpilzzulage enthielt	140,68	133,35	33,70	41,73	57,92		809,5
Also von der Ölpilzzulage resorbiert g	96,35	99,80	22,64	33,24	43,52		591,5
Also von der Ölpilzzulage resorbiert %	**68,5**	**74,9**	**65,4**	**79,7**	**75,2**		**78,0**

Vom Hunde wurden die Nährstoffe der Endomyces zu folgenden Prozentsätzen verdaut (siehe Seite 117).

	Trockensubstanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Calorien
	56,4	59,4	64,0	57,8	58,9		59,6
Hiernach war die Verdaulichkeit beim Schaf erhöht um:							
	21,5	26,1	2,2	37,9	27,9		22,5%

Die Proteinverdauung stimmt bei beiden Tierspezies also nahezu überein, während der Wiederkäuer die übrigen Nährstoffe des Ölpilzes wesentlich höher ausnutzt. Immerhin bleibt die Verdaulichkeit der Nährstoffe des Ölpilzes auch wesentlich hinter der für die Brauereihefe am Schaf gefundenen zurück. Die betreffenden Verdauungswerte waren*)

	94	88	100	100		94
Die Verdauungswerte des Ölpilzes waren also niedriger um						
	20,3	25,7	20,3	24,8		22,3%

*) W. Völtz, Über die Verwertung der Hefe als Nährmittel für Mensch und Tier. Die Naturwissenschaften 1916. H. 47.

Energieumsatz in Periode Ölpilzperiode.

Einnahmen pro Tag . . . . . 1975,9 Cal
Ausgaben pro Tag:
Im Kot . . . . . 554,2 Cal = 28,0% der Zufuhr
Energieverlust aus 168,67 g verdauter Rohfaser und N-freien Extraktstoffen durch Methangärung . . . . . 96,4 „ = 4,9 „ „ „
Im Harn . . . . . 128,1 „ = 6,5 „ „ „
Sa.: 7787 Cal = 39,4% der Zufuhr = 778,7 Cal
Somit beträgt der physiologische Nutzwert . . . . . 1197,2 Cal
entsprechend 60,6% der Zufuhr.

$$\text{Calorischer Quotient } \frac{\text{Harn} - \text{Cal } 128{,}7}{\text{Harn} - \text{N} \quad 10{,}10} = 12{,}7 .$$

Physiologischer Nutzwert der Ölpilzzulage:

In Faeces, Methan und Harn der vorliegenden Ölpilzperiode . 778,7 Cal
In Faeces, Methan und Harn der Rieselfelderheuperiode . . . 483,5 „
Somit mehr in der Hauptperiode . . . . . 295,2 Cal
Die Ölpilzzulage enthielt . . . . . 809,5 „
Somit beträgt der physiologische Nutzwert des Ölpilzes . . . 514,3 Cal
= 63,5%,
bzw. auf das Stickstoffgleichgewicht berechnet 65,4%.

Nach Versuchen am Hunde (siehe S. 119) betrug der physiologische Nutzeffekt des Endomyces bei Stickstoffgleichgewicht 49,6%.

Ergebnisse.

Die durchschnittliche Zusammensetzung des getrockneten Ölpilzes (Endomyces vernalis) sowie die Verdaulichkeit und Ausnutzbarkeit seiner Nährstoffe durch Carnivoren und Herbivoren haben wir in der nachstehenden Tabelle übersichtlich zusammengestellt:

Tabelle XI.

Endomyces vernalis.

	Rohnährstoffe kg	Verdauliche Nährstoffe nach Versuchen am Hund (Verdauungswerte) %	Hund kg	Wiederkäuer (Verdauungswerte) %	Wiederkäuer kg
Trockensubstanz . .	90,00	56,4	50,8	—	—
Asche	4,25	—	—	—	—
Organische Substanz	85,75	59,4	50,9	74,9	64,0
Rohprotein	20,84	64,0	13,3	65,4	13,6
Rohfett	25,14	57,8	14,5	79,7	20,0
Kohlehydrate . . .	39,77	58,1	23,1	75,2	29,9
Calorien	516900 Cal	59,6%	308200 Cal	73,0%	377500 Cal
Ausnutzb. Nährstoffe	—	49,6%	256400 Cal	65,4%	338100 Cal
Stärkewert	—	—	—	—	90,9 kg

Der Stärkewert des Ölpilzes von 91%, der den der meisten Kraftfutterstoffe übertrifft, ist in der Hauptsache durch den hohen Gehalt an verdaulichem Fett (20%) bedingt.

Die Zertrümmerung der Pilzzellen hat nach Versuchen am Hunde mit Ausnahme einer starken Erhöhung der Resorption des Fettes (von 58 auf 85%) keine Steigerung der Verdaulichkeit zur Folge gehabt.

Das isolierte Endomycesfett wurde vom Hunde zu rund 87% resorbiert.

Relativ schlecht wird von beiden Tierspezies das Protein des Endomyces resorbiert (zu 64 bzw. 65%). Dagegen ist z. B. das Hefeeiweiß zu rund 85% verdaulich, ebenso auch das Eiweiß von Pansenbakterien.

Über Agglutination und Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten.

Von

Wilhelm Starlinger.

(Aus der II. medizinischen Universitätaklinik in Wien.)

(Eingegangen am 24. November 1920.)

Das Wesen der Agglutination, sowohl der Bakterien wie der Zellen, ist bis heute noch nicht erschöpfend bekannt und keine der verschiedenen Theorien, die zur Lösung dieser Frage aufgestellt wurden, konnte bisher allgemeine Anerkennung finden.

Was die älteren Anschauungen betrifft, von denen nur die bedeutendsten kurz gestreift seien, so konnte für Grubers Hypothese, derzufolge die „Agglutinine" eine Quellung der Hülle des agglutinablen Körpers bewirken und so eine Klebrigkeit desselben hervorrufen, ein morphologisches Substrat in Struktur und Färbbarkeitsänderungen auch durch die eingehendsten mikroskopischen Untersuchungen nicht gefunden werden. Auch die Ansicht von Kraus, daß die Bakterien und Erythrocyten mechanisch durch die Präcipitine niedergerissen würden, konnte nach der inzwischen erfolgten Feststellung der Verschiedenheit von Agglutininen und Präcipitinen nicht aufrechterhalten werden. Am meisten dürfte sich noch Bordets Ansicht, die als Ursache der Agglutination eine molekulare Attraktionsänderung zwischen Suspensionsmittel und suspendierten Teilchen annimmt, der heute vorherrschenden Anschauung nähern, daß zwischen den Vorgängen, die sich bei der Agglutination abspielen, und den chemisch-physikalischen Prozessen, die bei der Ausfällung chemischer Lösungen ablaufen, eine große Übereinstimmung besteht.

In jüngster Zeit haben Herzfeld und Klinger eine Theorie der Agglutination aufgestellt, die sich bemüht, die allgemeinen Begriffe, die bis jetzt vielfach die Frage beherrschten, durch konkrete chemisch-physikalische Vorstellungen zu ersetzen. Da nun im folgenden versucht werden soll, dieser Theorie, soweit sie sich mit der Hämagglutination befaßt, durch neue Versuche weitere Stützen zu verschaffen, möge sie zuvor etwas eingehendere Darstellung finden.

Nach Herzfeld und Klinger[1]) beruht die Stabilität einer kolloidalen Eiweißlösung darauf, daß die einzelnen Eiweißmoleküle, die an sich

[1]) Diese Zeitschr. **83**, 42. 1917.

wasserunlöslich sind, sich durch Adsorption von wasserlöslichen Eiweißabbauprodukten diese „Wasserbenetzbarkeit" verschaffen; die endständigen Aminosäuren der niederen Eiweißabbauprodukte befinden sich dabei meist in der besonders leicht löslichen Form der Alkalisalze. Durch diese Wasserpolypeptidzone, die also jedes Eiweißteilchen umhüllt, wird die Wasserbenetzbarkeit der Oberfläche gesichert, und die gegenseitige Annäherung und Verklumpung, die nach außen als Ausflockung in Erscheinung tritt, verhindert. Alles, was diese Wasserpolypeptidzone stört, wird daher die Ausfällung des kolloidal gelösten Eiweißes herbeiführen müssen. So ist z. B. die Säureagglutination dadurch bedingt, daß sich die Alkalisalze der endständigen Aminosäuren in die schlecht löslichen freien Säuren verwandeln, während Zusatz von Schwermetallsalzen die Ausflockung durch Verdrängung und Ersatz der Alkalimetalle durch Schwermetalle erzielt. Die durch Neutralsalze bedingte Eiweißfällung dagegen beruht auf der Entziehung des Wassers, das von den Salzen gieriger angezogen als von den Polypeptiden festgehalten wird. Da sich nun Aufschwemmungen nativer Bakterien und Erythrocyten gegen alle diese chemisch-physikalischen Einflüsse genau so verhalten wie kolloidale Eiweißlösungen, indem gleiche Konzentrationen der agglutinierenden Substanz bei beiden Gruppen gleiche Veränderungen auslösen, übertrugen Herzfeld und Klinger ihre Erklärung der Ausfällung kolloidalen Eiweißes auch auf die Ausflockung von Bakterien und roten Blutkörperchen. Doch kommen speziell bei den Erythrocyten für die Löslichkeit der Oberfläche nicht nur hochdisperse Eiweißabbauprodukte, sondern auch Lipoide und Lipoidspaltstücke in Betracht, da der Zusatz gesättigter NaCl- und $MgSO_4$-Lösung, der Eiweißlösungen, die nur durch Polypeptide stabilisiert sind, sofort ausflockt, eine Agglutination der Erythrocyten noch nicht hervorzurufen vermag, so daß es sich nicht um Eiweißabbauprodukte allein handeln kann; erst Säuren, z. B. Salpetersäure, vermögen auch die Hydrophilie der Lipoide zu überwinden und bewirken auf diese Weise augenblickliche Agglutination[1]).

Kurz zusammengefaßt wird also nach den Anschauungen Herzfelds und Klingers die Suspensionsstabilität der Erythrocyten durch Adsorption von Eiweißabbauprodukten und Lipoiden infolge der dabei entstehenden Wasserhülle gesichert.

Zur Technik der im weiteren angeführten eigenen Versuche sei folgendes vorausgeschickt:

Das Blut wurde aus der möglichst kurz und schwach gestauten Armvene mit paraffinierter Spritze entnommen und sofort in Glasröhrchen gefüllt, die vorher mit den in den einzelnen Tabellen jeweils vermerkten Salzlösungen beschickt worden waren; die Röhrchen hatten ein Lumen von 5 mm Durchmesser und trugen am offenen Ende eine der Auffüllung auf 1 ccm entsprechende Marke, weitere außerdem nach unten zu in Abständen von 6, 12, 18 mm. Ich hielt mich in letzterem genau an die Angaben

[1]) Diese Zeitschr. 87, 37. 1918.

Linzenmeiers[1]), um auf der Basis derselben Versuchsbedingungen einen Vergleich beider Ergebnisse bewerkstelligen zu können. Die Bestimmung des Fibrinogengehaltes erfolgte mittels des Pulffrichschen Eintauchrefraktometers nach der Methode von Winternitz[2]), die den Brechungsindex von Plasma und Serum ermittelt, daraus den Eiweißgehalt berechnet und in der Differenz beider Werte den Fibrinogengehalt gegeben sieht. Während aller Versuche wurde die Zimmertemperatur auf gleicher Höhe zwischen 19 und 20° C gehalten. Schließlich möge bemerkt sein, daß von jedem prinzipiellen Experiment mindestens 6 Versuche angestellt wurden und daß niemals ein den aufgestellten Ergebnissen entgegengesetztes oder auch nur fragliches Resultat zu verzeichnen war.

Wenn man Blut durch Zusatz von Natr. citr. ungerinnbar macht, kann man in dünnen Glasröhrchen die Senkung der Erythrocyten durch stufenweises Messen der klaren Plasmasäule, die sich scharf vom roten Blutkörperchensediment absetzt, verfolgen. Während nun dieser Vorgang beim normalen Menschen sehr lange dauert, im allgemeinen für die kurze Strecke von 18 mm mehrere Stunden in Anspruch nimmt, kann unter bestimmten Verhältnissen eine starke Beschleunigung eintreten. Diese Verhältnisse sind nach den bis jetzt vorliegenden Untersuchungen bei Schwangerschaft nach Fahräus[3]) und Linzenmeier[4]), bei manchen Geisteskrankheiten, besonders der Paralyse nach Plaut[5]) und Runge[6]) und im Sekundärstadium der Lues nach Popper[7]) gegeben. Außerdem sedimentiert das Blut auch der normalen Frau etwas schneller als das des normalen Mannes, eine Beobachtung, in der alle zitierten Autoren übereinstimmen. Für die schnelle Sedimentierung des schwangeren Blutes machte schon Fahräus die Hämagglutination verantwortlich und ebenso konnte De Haan[8]) bei seinen Untersuchungen über die Sedimentierung des Pferdeblutes, die sich durch besonders große Schnelligkeit auszeichnet, umfangreiche Verklumpung der Erythrocyten feststellen.

Meine eigenen Beobachtungen, die ich systematisch bei vielen Versuchen mit verschieden schnell sedimentierenden Blutproben von gesunden und kranken Menschen durchführte, ergaben das gleiche Resultat. Zu diesem Zweck entnahm ich mit dünnen Glascapillaren von Zeit zu Zeit Proben aus der Grenzschicht von Plasma und Sediment und untersuchte sie im hängenden Tropfen.

[1]) Zentralbl. f. Gynäkol. **44**, 30, 916. 1920; Archiv f. d. ges. Physiol. **181**, 169. 1920.

[2]) Arch. f. Dermatol. u. Syphilis **100**, 227.

[3]) Diese Zeitschr. **89**, 355. 1918.

[4]) l. c.

[5]) Münch. med. Wochenschr. **67**, 279. 1920.

[6]) Münch. med. Wochenschr. **67**, 953. 1920.

[7]) Ber. d. Ver. dtsch. Ärzte in Prag, zit. Wiener klin. Wochenschr. **35**, 768. 1920.

[8]) Diese Zeitschr. **86**, 298. 1918.

Während nun im langsam sedimentierenden Normalblut selbst am Ende der Senkung sich die Erythrocyten noch in vollkommen freier Suspension befinden, tritt beim schnell sedimentierenden Blut bereits nach kurzer Zeit umfangreiche Geldrollenbildung auf, die sich bald zu intensiver Verklumpung steigert. Dieser Vorgang setzt um so schneller und umfangreicher ein, je schneller sich die Senkung vollzieht. Noch eine andere Beobachtung spricht dafür, daß tatsächlich die Hämagglutination die Ursache der schnellen Sedimentierung ist. Wenn man nämlich die Zeiten vergleicht, die die roten Blutkörperchen des normalen Blutes zum Durchmessen der einzelnen gleichen Senkungsabschnitte benötigen, so bleiben diese im Verlauf der Senkung im allgemeinen die gleichen, verlängern sich sogar sehr oft — für welch letztere Erscheinung die Erklärung noch zu geben sein wird —, während beim schnell sedimentierenden Blut für gleiche Strecken immer kürzere Zeiten genügen. Die Ursache dafür liegt meines Erachtens darin, daß im ersten Fall das Verhältnis des Volumens zur Oberfläche des sinkenden Körpers während der ganzen Senkungszeit das gleiche bleibt, während im zweiten Fall dieses Verhältnis infolge der konstant andauernden Vergrößerung des Aggregates zuungunsten der Oberfläche verschoben und dadurch immer schnelleres Fallen bedingt wird, wie Tabelle I zeigt.

Zur Erklärung dieser und der folgenden Tabellen sei bemerkt, daß die Senkungszeiten alle vom Beginn der Senkung an gerechnet wurden und in Minuten angegeben sind.

Tabelle I.

Prot.-Nr.	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm	Reduzierte Verhältniswerte der Zeiten		
1	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	157 Min.	368 Min.	540 Min.	1	2,34	3,44
42		90 „	185 „	285 „	1	2,05	3,17
8		13 „	19 „	25 „	1	1,46	1,92
76		7 „	11 „	13 „	1	1,56	1,85

Aus den reduzierten Verhältniswerten der Zeiten ist das oben geschilderte differente Verhalten des schnell- und langsam sedimentiernden Blutes ohne weiteres ersichtlich: Die langsame Senkung benötigt für die Strecke von 6—18 mm, also für die

letzten zwei Drittel, immer mindestens die doppelte Zeit, die sie für das erste Drittel bis 6 mm beanspruchte, während bei der schnellen Senkung die letzten zwei Drittel regelmäßig in kürzerer Zeit durchlaufen werden als das erste.

Auf den ursächlichen Zusammenhang zwischen erhöhter Sedimentierungsgeschwindigkeit und Hämagglutination weist auch noch folgender Versuch hin, der eine verlängerte Senkungszeit bei Verdünnung des Blutes dartut.

Tabelle II.

Prot.-Nr.	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm
87	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	30 Min.	63 Min.	116 Min.
	0,4 Natr. citr. 5% 0,6 Blut	55 „	120 „	230 „
88	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	19 „	29 „	43 „
	0,4 Natr. citr. 5% 0,6 Blut	22 „	38 „	63 „

Der Abstand der einzelnen roten Blutkörperchen wird eben durch die Verdünnung derart vergrößert, daß die Annäherung und Agglutination beim langsamer sedimentierenden Blut fast ganz unmöglich gemacht, beim schnell sedimentierenden bedeutend verzögert wird, welche Annahme auch im hängenden Tropfen die entsprechende Bestätigung findet.

Durch alle diese Beobachtungen scheint es sichergestellt, daß die Ursache der erhöhten Sedimentierungsgeschwindigkeit die Hämagglutination ist, und es dürfte daher wohl angängig sein, für Veränderungen der Senkungsbeschleunigung, die durch willkürliche Beeinflussung erzielt werden, entsprechende Veränderungen im Agglutinationsvorgange als Ursache anzunehmen, wodurch die Möglichkeit geboten ist, diese Veränderungen, die sich sonst nur schwer nachweisen und miteinander vergleichen lassen, in deutlichen Ausschlägen verfolgen zu können.

Bei den im folgenden beschriebenen Versuchen wurde der Typus der mehr oder weniger umfangreichen Agglutination und schnellen Sedimentierung durch verschiedene pathologische Zustände kranker, der Typus der fehlenden Agglutination und langsamen Sedimentierung durch den Normalzustand gesunder

Menschen vertreten. Da nun bei diesen Krankheitsformen der Fibrinogengehalt des Blutes, worüber Untersuchungen an unserer Klinik im Gange sind, bedeutend erhöht gefunden wurde, war es naheliegend, an eine Beziehung zwischen Fibrinogengehalt und Senkungsvermögen des Blutes zu denken.

Den Schlüssel zum näheren Verständnis dieser Beziehung scheint nun meines Erachtens die Herzfeld-Klingersche Theorie zu bieten, derzufolge der Dispersitätsgrad der in Lösung zu erhaltenden Eiweißteilchen in umgekehrtem Verhältnis zur Menge der adsorpierten Polypeptide steht, oder mit anderen Worten: Je niedriger dispers ein Eiweißkörper ist, desto größer wird sein Bedarf an niedrigen Eiweißabbauprodukten sein, um in Lösung zu bleiben. Da nun das Fibrinogen als erste Stufe beim Abbau des Organeiweißes[1]) den höchstmolekularen Eiweißkörper des Blutes darstellt und sich infolge seiner niederen Dispersität nur sehr schwer in Lösung erhalten kann, wird es hochdisperse Eiweißabbauprodukte in großer Menge adsorbieren müssen, um nicht als Fibrin auszufallen, eine Entwicklung, die unter keinen Umständen eintreten darf, wenn das Leben des Organismus aufrechterhalten werden soll; je größer also der Fibrinogengehalt des Blutes ist, desto mehr wird der Bedarf an Polypeptiden steigen, die der Organismus dem Fibrinogen, wo immer sie nur entbehrlich sind, zur Verfügung stellen wird. Am leichtesten dürften wohl die Erythrocyten einen Teil ihrer adsorbierten niedern Eiweißabbauprodukte verlieren können, ohne daß eine Autoagglutination im strömenden Blute aufzutreten braucht. Die Oberfläche der roten Blutkörperchen wird daher unter solchen Umständen an wasserlöslichen Polypeptiden verarmen, die einhüllende Wasserzone wird eine Störung erleiden, die Tendenz zur Agglutination wird steigen, allerdings aber, solange sich die Erythrocyten noch im strömenden Blute befinden, latent bleiben, um jedoch außerhalb des Kreislaufs sofort als gesteigerte Senkungsgeschwindigkeit in Erscheinung zu treten.

Wenn diese theoretischen Erwägungen richtig sind, muß vor allem der überragende Einfluß des Fibrinogens auf den Agglutinationsvorgang einwandfrei zu erkennen sein, welchen Beweis Tabelle III erbringen soll.

---

[1]) Diese Zeitschr. **83**, 42. 1917.

Tabelle III.

Prot.-Nr.	Geschlecht	Eiweißwerte des Plasmas	Eiweißwerte des Serums	Fibrinogen	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm
75	männlich	9,58	8,92	0,66	0,2 Natr. citr. 5%	12 Min.	20 Min.	29 Min.
79		8,52	7,91	0,61	0,8 Blut	13 „	22 „	34 „
80		8,41	7,84	0,57		15 „	23 „	36 „
34		9,69	9,24	0,55		20 „	29 „	38 „
78		8,37	7,89	0,48		18 „	25 „	40 „
29		9,45	9,06	0,39		30 „	50 „	80 „
87		9,75	9,41	0,34		32 „	63 „	116 „
96		8,47	8,19	0,28		38 „	88 „	200 „
28		9,77	9,54	0,23		82 „	163 „	245 „
1		8,73	8,56	0,17		157 „	157 „	540 „
56	weiblich	9,52	8,92	0,60		11 „	18 „	24 „
25		10,28	9,69	0,59		14 „	19 „	24 „
53		9,77	9,33	0,44		15 „	23 „	30 „
4		9,39	9,01	0,38		16 „	28 „	50 „
100		9,71	9,35	0,36		26 „	54 „	110 „
15		9,35	9,03	0,32		38 „	65 „	117 „
48		9,03	7,96	0,28		45 „	87 „	175 „
10		8,96	8,73	0,23		49 „	101 „	150 „
5		7,96	8,49	0,22		60 „	115 „	152 „
81		9,44	9,26	0,18		70 „	150 „	320 „

Die Beziehung des Fibrinogengehaltes zur Senkungsgeschwindigkeit tritt in der Tabelle in dem Sinne deutlich hervor, daß ein hoher Fibrinogenwert kurze, ein niederer Fibrinogenwert lange Senkungdauer nach sich zieht. Daß es sich hauptsächlich um den höchstmolekularen Eiweißkörper des Blutes, also um das Fibrinogen handeln muß und die in ihrer Dispersität in aufsteigender Linie befindlichen übrigen Bluteiweißkörper: Euglobuline-Pseudoglobuline-Serumalbumine einen um vieles geringeren Einfluß besitzen — wie es die theoretische Überlegung ja ohne weiteres erfordert — geht ebenfalls aus der Tabelle III hervor: man braucht nur die Senkungszeiten und die Gesamteiweißwerte zu vergleichen, um zu erkennen, daß die Unterschiede der letzteren in gar keinem Verhältnis zu den Unterschieden der ersteren stehen. Gleichwohl aber sind als Mitursache auch die anderen Bluteiweißkörper in Betracht zu ziehen, nur eben entsprechend ihrer höheren Dispersität in weitaus geringerem Maße; wie denn überhaupt der ganze Vorgang zweifellos komplexer Natur ist. So ist z. B. schon auf Grund der Tabelle II anzunehmen, daß die Zahl der roten Blutkörperchen nicht gleichgültig sein kann, ferner dürfte auch der Salzgehalt des Plasmas eine gewisse Bedeutung beanspruchen.

Besonders anschaulich wird das umgekehrte Verhältnis zwischen Fibrinogengehalt und Senkungszeit durch vergleichende Tageskurven bei Versuchen am selben Patienten gemacht. Um beim gleichen Menschen während eines Tages verschieden hohe Fibrinogenwerte zu erhalten, was notwendig war, wenn deutliche Rückwirkungen auf die Senkungsgeschwindigkeit zur Beobachtung kommen sollten, brachte ich nach dem Vorgange von Moll[1]), Löwy[2]), Modrakowski und Orator[3]) parenterale Eiweißzufuhr in Anwendung, wodurch es unschwer gelingt, starke Fibrinogenschwankungen zu erzielen.

Tabelle IV.

Prot.-Nr.	Zeit	Eiweißwerte des Plasmas	Eiweißwerte des Serums	Fibrinogen	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm
70	10^h	9,43	8,99	0,44	0,2 Natr. citr. 5%	15 Min.	24 Min.	35 Min.
	4^h	9,12	8,67	0,45	0,8 Blut	14 „	23 „	35 „
	6^h	9,58	8,92	0,66		12 „	20 „	28 „
78	10^h	8,37	7,89	0,48		18 „	25 „	40 „
	4^h	8,52	7,91	0,61		13 „	22 „	34 „
	6^h	8,41	7,84	0,57		15 „	23 „	36 „

Die oben bereits geschilderte Übereinstimmung tritt so offensichtlich hervor, daß eine Diskussion der Tabelle unterbleiben kann, Bemerkt soll nur werden, daß es nicht auffallen darf, wenn in den obigen zwei Versuchen den großen Fibrinogendifferenzen nur relativ kleine Veränderungen der Sedimentierungszeiten entsprechen; es handelt sich eben um bereits sehr kurze Senkungszeiten, oder mit anderen Worten: Die Oberflächen der roten Blutkörperchen sind schon fast ganz der Polypeptide beraubt, so daß ein stärkeres Absinken der Zeit bzw. eine noch weiter gehende Verarmung an hochdispersen Abbauprodukten nur mehr in beschränktem Maße möglich ist.

Wenn das Fibrinogen einen derartigen Einfluß auf die Sedimentierungsgeschwindigkeit ausübt, wie durch die oben angeführten Versuche rein vergleichsweise gezeigt wurde, so müssen experimentelle Eingriffe, die die Menge des Fibrinogens vergrößern oder vermindern, entsprechende Ausschläge in der Senkungszeit zur Folge haben. Vor allem muß eine gänzliche Entfernung des Fibrinogens eine sehr starke Hemmung der Sedimentierung mit sich bringen. Zu diesem Zwecke wurde ein Teil der jeweiligen Blutprobe durch Ausschütteln mit Glaskugeln

[1]) Wiener klin. Wochenschr. **18**, 1215. 1903.
[2]) Zentralbl. f. inn. Med. 1916.
[3]) Wiener klin. Wochenschr. **35**. 1917.

defibriniert, der andere auf die gewöhnliche Weise durch Zusatz von Natr. citr. ungerinnbar gemacht und nun die Sedimentierung verglichen.

Die Beobachtung ergab als konstantes Resultat eine komplette Hemmung der Agglutination, die sich mikroskopisch im hängenden Tropfen auch noch am Ende der Senkung durch vollkommen freie Erythrocytensuspension nachweisen ließ und makroskopisch durch eine sehr verlangsamte Sedimentierung manifestierte.

Tabelle V.

Prot.-Nr.	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm
66	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	68 Min.	150 Min.	265 Min.
	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 defibrin. Blut	360 „	820 „	1750 „
84	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	15 „	23 „	35 „
	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 defibrin. Blut	54 „	103 „	160 „

Schüttelt man die Glasröhrchen nach der Sedimentierung sofort wieder auf und läßt das Blut zum zweitenmal sedimentieren, so bleiben die Senkungszeiten, falls die erste Senkung nur kurze Zeit beanspruchte, dieselben oder verlängern sich um ein geringes, wenn die erste Senkung länger dauerte. Der Agglutinationsvorgang ist also reversibel, worauf auf Grund anderer Versuche auch Herzfeld und Klinger[1]) aufmerksam machten, muß daher mit Wahrscheinlichkeit als ein chemisch-physikalischer angesprochen werden, entsprechend den eingangs gegebenen Ausführungen. Auch im hängenden Tropfen läßt die sich wieder zeigende freie Blutkörperchensuspension auf die Lösung der Aggregate schließen.

Damit ist auch erklärt, warum die Erythrocyten, die in vitro schnell agglutinieren und sedimentieren, im lebenden Organismus nicht miteinander verklumpen; denn wenn schon das geringe Aufschütteln, das durch 20maliges Umwenden der Gläschen durchgeführt wurde. genügte. um die Aggregate zu lösen um wieviel mehr müssen die fortwährenden Wirbelbewegungen des strömenden Blutes imstande sein jede Autoagglutination zu verhindern.

[1]) l. c.

Durch dieses Verhalten des wiederaufgeschüttelten Blutes ist Gelegenheit zu einem Versuche gegeben, der das Ergebnis des Defibrinierungsversuches nach der entgegengesetzten Seite hin zu ergänzen besonders geeignet erscheint. Nachdem die erste Senkung zweier gleich schnell sedimentierender Blutproben abgelaufen war, wurde in dem einen Röhrchen das Citratplasma abpipettiert und durch Hirudinplasma von der gleichen Blutentnahme ersetzt. Die zweite Sedimentierung mußte als Resultat eine stark beschleunigte Senkung der mit Hirudinplasma versetzten Erythrocyten erwarten lassen, da durch das in solcher Menge frisch zugesetzte Fibrinogen eine weitere Beraubung der Oberflächen der roten Blutkörperchen an Polypeptiden anzunehmen war, was eine Erhöhung der Tendenz zur Agglutination mit sich bringen mußte.

Tabelle VI.

Prot.-Nr.	Sedimentierung	Probe	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm
23	erste	I	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	44 Min.	92 Min.	178 Min.
		II	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	44 „	92 „	180 „
	zweite	I	wiederaufgeschüttelt	44 „	92 „	178 „
		II	wiederaufgeschüttelt nach Ersatz des Zitratplasmas durch Hir. Plasma	20 „	41 „	76 „
30	erste	I	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	32 „	58 „	108 „
		II	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	31 „	57 „	108 „
	zweite	I	wiederaufgeschüttelt	33 „	59 „	110 „
		II	wiederaufgeschüttelt nach Ersatz des Zitratplasmas durch Hir. Plasma	14 „	29 „	41 „

Bei diesen Versuchen könnte man einwenden, daß für die Senkungsbeschleunigung die Fibrinogenvermehrung als Ursache anzunehmen kein Grund vorliege, da ebensogut die Gesamteiweißvermehrung die Ursache dafür abgeben könnte. Es muß also die Fibrinogenwirkung sozusagen isoliert dargetan werden, was durch eine Kombination der beiden vorhergehenden Versuche leicht zu erreichen ist. Nach der ersten Sedimentierung zweier defibrinierter Blutproben wird in beiden Röhrchen das Serum abpipettiert und einerseits durch frisches Hirudinplasma, andererseits durch frisches

Serum — auch dieses mit Hirudinzusatz — von der gleichen Blutentnahme ersetzt. Ist nun die Senkungszeit nach erfolgter Aufschüttelung bei der zweiten Sedimentierung im Serumröhrchen dieselbe, im Plasmaröhrchen verkürzt, so ist der Beweis für die ausschlaggebende Wirkung des Fibrinogens erbracht. Die folgende Tabelle VII ergibt im Versuchsprotokoll die Richtigkeit der Überlegung.

Tabelle VII.

Prot.-Nr.	Sedimentierung	Probe	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm
48	erste	I	1,0 defibr. Blut	360 Min.	820 Min.	1750 Min.
		II	1,0 defibr. Blut	360 „	820 „	1750 „
	zweite	I	wiederaufgeschüttelt nach Ersatz des Serums durch frisches Serum	380 „	850 „	1800 „
		II	wiederaufgeschüttelt nach Ersatz des Serums durch Hirudinplasma	120 „	270 „	1260 „
76	erste	I	1,0 defibr. Blut	17 „	25 „	32 „
		II	1,0 defibr. Blut	17 „	25 „	32 „
	zweite	I	wiederaufgeschüttelt nach Ersatz des Serums durch frisches Serum	17 „	26 „	32 „
		II	wiederaufgeschüttelt nach Ersatz des Serums durch Hirudinplasma	13 „	15 „	17 „

Warum in Prot.-Nr. 48 die erste Probe bei der zweiten Sedimentierung eine Hemmung der Senkung aufweist, wird im folgenden zweiten Abschnitt zu erörtern sein.

Das Prinzip aller dieser bis jetzt beschriebenen Versuche geht darauf hinaus, zu zeigen, daß Fibrinogenanreicherung infolge der Polypeptidberaubung der Erythrocytenoberflächen erhöhte Agglutination und beschleunigte Sedimentierung bewirkt. Die nun zu schildernden Versuche sollen erkennen lassen, daß eine Vermehrung der Polypeptide das Gegenteil, nämlich eine starke Hemmung der Agglutination mit entsprechender Verzögerung der Senkung zur Folge hat.

Am einfachsten wird eine Vermehrung der hochdispersen Eiweißabbauprodukte durch Aufspaltung der niedriger dispersen Eiweißkörper auf hydrolytischem Wege zu erzielen sein, welche Wirkungsweise bereits der Aufschüttelungsversuch des Citratbluts erkennen läßt, vorausgesetzt, daß zwischen erster und zweiter Sedimentierung ein genügend großer Zeitabschnitt verstrichen

ist. Läßt man nämlich nach Ablauf der ersten Senkung sofort zum zweitenmal sedimentieren, so bleibt, wie oben gesagt, die Senkungsgeschwindigkeit dieselbe schiebt man aber zwischen beide Versuche eine längere Pause ein, ist eine starke Verzögerung der zweiten Senkung die Folge; ein Phänomen, das bereits von Linzenmeier beobachtet wurde, jedoch mit der Bemerkung, eine Erklärung hierfür nicht geben zu können, weiterer Diskussion überwiesen wurde. M. E. kann die Ursache hierfür nur in der Hydrolyse infolge des Zusatzes von Natr. citr. liegen, welches sich in verdünnter Lösung teilweise in seine Komponenten Natronlauge und Citronensäure zerlegen wird, die ihrerseits eine teilweise Aufspaltung der Bluteiweißkörper bewirken. Den dadurch bedingten Überschuß an Polypeptiden nehmen die Erythrocyten für sich in Beschlag und erhöhen dadurch ihre Oberflächenbenetzbarkeit unter Verminderung der Tendenz zur Agglutination. Da die eiweißspaltende Wirkung einer 5 proz. Natr. citr.-Lösung natürlich nur schwach sein kann, wird der Zeitraum zwischen erster und zweiter Senkung relativ groß sein müssen, um deutliche Hemmung zur Folge zu haben. Damit ist auch die Erklärung der Verzögerung der zweiten Senkung bei der ersten Probe des Versuches Prot.-Nr. 48 gegeben.

Tabelle VIII.

Prot.-Nr.	Sedimentierung	Zeit	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm
41	erste	—	0,2 Natr. citr. 5%	30 Min.	55 Min.	110 Min.
	zweite	nach 3h	0,8 Blut	31 „	57 „	112 „
	dritte	nach 6h		32 „	57 „	112 „
	vierte	nach 20h		44 „	86 „	161 „
56	erste	—	0,2 Natr. citr. 5%	11 „	18 „	24 „
	zweite	nach 3h	0,8 Blut	15 „	25 „	36 „
	dritte	nach 16h		24 „	37 „	45 „
	vierte	nach 40h		48 „	91 „	133 „

Auch der Unterschied, der in Tabelle VIII zwischen dem Verhalten des mittelschnell- (Prot.-Nr. 41) und schnell sedimentierenden Blutes (Prot.-Nr. 56) besteht, weist auf die Polypeptide als Ursache hin. Im zweiten Fall tritt bereits nach 3 Stunden eine bedeutende Verzögerung ein, da die Verarmung der Erythrocytenoberflächen an niederen Eiweißabbauprodukten so bedeutend ist, daß schon eine relativ geringe Menge neugebildeter Polypeptide genügt, eine relativ große Erhöhung der Stabilisierung zu bewirken, während im zweiten Fall noch nach Stunden keine merkbare Hemmung eintritt, da die Menge der durch Hydrolyse neugebildeten Polypeptide im Verhältnis zu den von vornherein vorhandenen relativ gering ist.

Jedenfalls müssen, wenn die Hydrolyse es ist, die die Senkungsverzögerung auch bei geringem Zusatz von 5 proz. Natr. citr. hervorruft, falls nur genügend lange Einwirkungszeit zu Gebote steht, höhere Konzentrationen von Natr. citr. eine stärkere Hemmung erzielen. Das ist auch der Fall, wie folgende Tabelle IX zeigt.

Tabelle IX.

Prot.-Nr.	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm
47	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	16 Min.	20 Min.	26 Min.
	0,2 Natr. citr. 20% 0,8 Blut	20 „	36 „	60 „
48	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	45 „	87 „	175 „
	0,2 Natr. citr. 20% 0,8 Blut	66 „	119 „	200 „

Des weiteren muß eine Änderung der Aktivität der hydrolisierenden Substanz einen entsprechenden Ausschlag der Senkungsgeschwindigkeit als Maß der veränderten Agglutination ergeben.

Ich verwendete zu diesem Behufe neben Natr. citr. Calciumchlorid und Natriumchlorid. Am schwächsten eiweißspaltend wirkt Natr. citr., am stärksten Natriumchlorid; Calciumchlorid nimmt eine Mittelstellung ein, indem es einerseits das Natr. citr. an hydrolytischer Aktivität übertrifft, weil die freigewordene Salzsäure im Verhältnis zur Citronensäure stärker Eiweiß spaltet als die Natronlauge im Verhältnis zum Calciumhydroxyd, andererseits aber dem Natriumchlorid um so viel nachsteht, als die Wirkung des Calciumhydroxyds hinter der der Natronlauge zurückbleibt. Demzufolge wird Natriumchlorid die stärkste, Natr. citr. die schwächste Hemmung entfalten müssen. Versuchsstörungen durch Gerinnung schaltete ich dadurch aus, daß ich einerseits defibriniertes Blut in Anwendung brachte, wodurch zwar die Senkungszeit verlängert, die gegenseitigen Differenzen aber erhalten bleiben mußten, andererseits aber außer dem jeweils auf seine Aktivität zu untersuchenden Salz noch Natriumcitrat zusetzte.

Tabelle X soll diese Erwägungen durch Wiedergabe zweier Versuchsprotokolle bestätigen.

Tabelle X.

Prot.-Nr.	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm
84	0,2 Natr. citr. 20% 0,8 defibr. Blut	108 Min.	225 Min.	410 Min.
	0,2 $CaCl_2$ 20% 0,8 defibr. Blut	255 „	640 „	1100 „
	0,2 NaCl 20% 0,8 defibr. Blut	420 „	1280 „	2200 „
86	0,4 Natr. citr. 20% 0,6 Blut	43 „	75 „	100 „
	0,2 Natr. citr. 20% 0,2 $CaCl_2$ 20% 0,6 Blut	95 „	195 „	300 „
	0,2 Natr. citr. 20% 0,2 NaCl 20% 0,6 Blut	135 „	270 „	420 „

Einen deutlichen Hinweis auf die Polypeptide als Stabilisationsfaktor erlaubt noch folgender letzter Versuch, der eine starke Hemmung der Agglutination auf Zusatz einer 5proz. Lösung von Pepsin und salzsaurem Betain (0,1 Peps., 0,4 salzs. Bet. 10,0 aqu. dest.) erkennen läßt, verursacht durch die teilweise

Tabelle XI.

Prot.-Nr.	Sedimentierung	Probe	Versuchsanordnung	6 mm	12 mm	18 mm
109	erste	I	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	30 Min.	45 Min.	66 Min.
		II	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	29 „	44 „	66 „
	zweite	I	wiederaufgeschüttelt	30 „	45 „	66 „
		II	wiederaufgeschüttelt nach Ersatz v. 0,1 Zitratplasma durch 0,1 5proz. Pepsin und salzs. Betain	45 „	87 „	156 „
110	erste	I	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	18 „	25 „	35 „
		II	0,2 Natr. citr. 5% 0,8 Blut	18 „	25 „	35 „
	zweite	I	wieder aufgeschüttelt	18 „	25 „	35 „
		II	wieder aufgeschüttelt nach Ersatz v. 0,1 Zitratplasma durch 0,1 5proz. Pepsin und salzs. Betain	25 „	47 „	78 „

Pepsinverdauung der Bluteiweißkörper, die nur bis zu den Polypeptiden fortschreitet und so eine Anreicherung derselben bewirkt.

Auf die Befunde der zitierten Autoren einzugehen, um sie mit den vorliegenden zu vergleichen, ist wegen der Kürze des zur Verfügung stehenden Raumes nicht möglich und wird im Rahmen einer späteren Mitteilung nachzuholen sein. Hier möge nur festgestellt werden, daß die experimentellen Ergebnisse von Fahraeus und Linzenmeier, die bis jetzt als einzige eine befriedigende Erklärung des Sedimentierungsphänomens, und zwar auf elektrophysikalischem Wege versuchten, mit den hier vertretenen Anschauungen in volle Übereinstimmung zu bringen sind; sie beleuchten gewissermaßen die energetischen Auswirkungen des zweifellos kolloidchemischen Vorganges, dessen körperliches Substrat in den vorliegenden Ausführungen darzustellen versucht wurde.

Zusammenfassung.

I. Die Feststellung früherer Autoren, daß als Ursache erhöhter Sedimentierungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen eine Agglutination derselben anzunehmen sei, konnte durch eigene systematische Untersuchungen in dem Sinne bestätigt werden, daß sich die roten Blutkörperchen bei der schnellen Senkung verklumpt, bei der langsamen Senkung in freier Suspension zeigten, womit einerseits die sich innerhalb gleicher Zeiten immer rascher vollziehende Senkung beim schnell sedimentierenden gegenüber der gleich rasch bleibenden Senkung beim langsam sedimentierenden Blut, andererseits die Verzögerung der Senkung durch Verdünnung im Einklange stand. Es schien also berechtigt, bei den weiteren Versuchen die Senkungsgeschwindigkeit als Maß des Umfanges der Agglutination zu verwenden.

II. Bei diesen Versuchen konnte festgestellt werden, daß mit großer Senkungsgeschwindigkeit stets hoher, mit geringer Senkungsgeschwindigkeit stets niedriger Fibrinogengehalt parallel ging, ebenso wie auch eine experimentell erzeugte Vermehrung des Fibrinogens in einer Verkürzung, eine Verminderung desselben in einer Verlängerung der Senkungszeit in Erscheinung trat. Weiters konnte durch Zusatz von Stoffen, die auf hydrolytischem Wege Eiweiß spalten, stets eine starke Hemmung der

Senkung hervorgerufen werden, die um so stärker zur Ausbildung kam, je aktiver hydrolysierende Stoffe verwendet wurden.

III. Fußend auf der Herzfeld-Klingerschen Theorie, derzufolge die Suspensionsstabilität der roten Blutkörperchen der Hauptsache nach durch eine wasserlösliche Adsorptionszone von niederen Eiweißabbauprodukten aufrechterhalten wird, scheint es daher nicht unangebracht zu sein, anzunehmen, daß einerseits ein hoher Gehalt an niedrigst dispersen Eiweißkörpern durch Beraubung der Erythrocytenoberflächen an Polypeptiden eine verminderte Suspensionsstabilität und erhöhte Agglutination bewirkt, während andererseits eine Vermehrung der Polypeptide durch Anreicherung derselben an den Oberflächen der roten Blutkörperchen eine erhöhte Suspensionsstabilität und verminderte Agglutination zur Folge hat.

Über die chemische Zusammensetzung der Blutkörperchen.

Von

W. Falta und **M. Richter-Quittner.**

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserin Elisabeth-Spitales in Wien.)

(Eingegangen am 27. November 1920.)

In einer früheren Arbeit konnten wir zeigen, daß unter physiologischen Verhältnissen die Blutkörperchen des Menschen und aller von uns untersuchter Tierarten frei von Zucker, Reststickstoffkörpern und Chlor sind. Die damals erhobenen Befunde konnten im Laufe des letzten Jahres nicht nur vollinhaltlich bestätigt, sondern auch erweitert werden, da weitere Untersuchungen ergeben haben, daß die Blutkörperchen auch kein Calcium und keine Cholesterinester enthalten. Gegen die von uns vertretene Anschauung haben in jüngster Zeit eine Anzahl dänischer Forscher Stellung genommen. So findet z. B. Ege die roten Blutkörperchen des Rindes, des Kaninchens und des Hundes für Glukose „impermeabel", die des Menschen „permeabel". Ebenso finden Hagedorn, Gaad-Andresen und Warburg Zucker, Harnstoff und Chlor in den Blutkörperchen des Menschen. Zu mit den unsrigen übereinstimmenden Resultaten kommen hingegen Brinkman und E. van Dam. Die chemische Analyse der Blutkörperchen des Froschblutes, bei welchen die Gerinnung durch Auffangen in paraffinierten Gefäßen verhindert worden war, ergab keinen Zucker. Auch bei Adrenalinhyperglykämie fand sich kein Zucker in den Froschblutkörperchen. Wenn hingegen das Froschblut bei der Gerinnung durch Schlagen mit einem Glasstab defibriniert wurde, so drang jedemal Zucker in beträchtlichen Mengen ein. Im osmotischen Versuch erwiesen sich auch die Menschenblutkörperchen für Glucose „impermeabel", wenn die Gerinnung durch Durchperlen eines indifferenten Gases verzögert wurde. Wurde hingegen das Blut mit Hirudin oder Natriumcitrat ungerinnbar gemacht, so drang Zucker in die

Blutkörperchen ein. Brinkman und E. van Dam erklären ihre Befunde in der Weise, daß die Blutkörperchen nur dann für Zucker „impermeabel" bleiben, wenn jede Spur einer Gerinnung vermieden wird. Bei Zusatz von Hirudin, Natriumcitrat usw. soll der Beginn der Gerinnung nicht verhindert werden können und es soll nach Ansicht dieser Autoren die minimalste Gerinnung einen Einfluß auf die Permeabilität haben. Die von R. Brinkman und E. van Dam erhobenen Befunde können wir im großen und ganzen als Stütze unserer eigenen Versuche auffassen, nur können wir uns mit der Deutung, die diese Autoren ihren Experimenten gegeben haben, nicht einverstanden erklären. Gegen diese Deutung spricht der Umstand, daß wir, wenn wir das Blut der spontanen Gerinnung überlassen, im Serum den gleichen Zuckergehalt finden wie im Plasma. Es ist also während der Gerinnung kein Zucker in die Blutkörperchen eingedrungen. Brinkman und E. van Dam kommen im Froschblut zu den gleichen Resultaten. Sie meinen aber, daß dies nur anscheinend mit ihrer Anschauung in Widerspruch stehe, da bei der spontanen Gerinnung die Körperchen rasch von Plasma getrennt werden. Nur dann, wenn die Körperchen mit dem gerinnenden Plasma in Berührung kommen, würden sie für Zucker permeabel. Gegen diese Deutung spricht eine große Reihe von Versuchen, bei denen wir das Serum durch Schütteln mit Glasperlen und nachheriges Zentrifugieren gewonnen haben, wobei also die Körperchen erst nach der Gerinnung vom Serum getrennt wurden. Trotzdem wurde auch in diesem Serum der ganze Zucker gefunden.

Wir vertreten, wie oben erwähnt, die Ansicht, daß die Blutkörperchen des Blutes unter normalen Verhältnissen keinen Reststickstoff, kein Chlor und kein Calcium enthalten. Nur wenn die Blutkörperchen extra corpus auf irgendeine Weise geschädigt werden, treten diese Stoffe in die Blutkörperchen ein. Auf Grund unserer bisherigen Erfahrungen können wir folgende Faktoren angeben, welche die Blutkörperchen extra corpus so stark schädigen, daß die obenerwähnten Körper in deutlich nachweisbaren Mengen in sie eindringen (siehe Tabelle I):

1. Stehenlassen des Gesamtblutes (Plasma und Blutkörperchen) gleichgültig bei welcher Temperatur.
2. Defibrinieren durch Schlagen mit einem Glas- oder Holzstab.
3. Zu langes und zu kräftiges Zentrifugieren.

Tabelle I.

Experimentelle Schädigung der Blutkörperchen extra corpus.

Datum	Name	Diagnose	Blutkörperchenvolumen	Plasma		Bemerkung
				D	Chlor	
24. VIII. 1920	Schm.	Nephrose	45,6 45,0	90,45 90,60 86,42 89,00		Sofort untersucht 4 Tg. als Gesamtblut gestanden, dann zentrifugiert u. unters.
9. XII. 1918	L. Mader	Nephritis	46,4 46,4	120,47 120,40 113,11 113,00		Sofort untersucht 54 St. als Gesamtblut gestanden, dann zentrifug.
28. X. 1918	Gr.	Nephritis		126,54 126,43 121,44 121,40	0,603 0,603 0,584 0,596	Hirudinplasma Na-Oxalatplasma
27. VIII. 1920		Ochsenplasma		143,21 143,42 136,42 136,00		Na-Citratplasma sof. untersucht Gesamtblut auf 5° C gekühlt. Nach dem Auftauen zentrifug.

4. Gefrierenlassen der Blutkörperchen. Oft wirkt schon die Abkühlung auf 0° sehr schädlich.

5. Zusatz von calciumfällenden Salzen zwecks Ungerinnbarmachung des Blutes, besonders wenn diese Salze in zu großer Konzentration angewendet werden. Es ist selbstverständlich, daß die obenerwähnten Faktoren die Blutkörperchen schädigen können, aber durchaus nicht immer schädigen müssen. Wir fanden z. B. manchmal, daß die Blutkörperchen selbst durch Natriumoxalat nicht geschädigt wurden; anderseits können unter pathologischen Verhältnissen die Blutkörperchen eine besondere Empfindlichkeit aufweisen. Letzteres zeigt sehr schön Fall F. (Caries) Tabelle II. Die Blutkörperchen des Hirudinblutes enthalten hier kein Chlor, die des Natriumcitratblutes enthalten Chlor. Hier tritt also bei Verwendung des sonst unschädlichen Natriumcitrates eine Schädigung der Blutkörperchen ein.

Defibrinieren durch Schütteln mit Glasperlen schädigt die Blutkörperchen nicht, dies geht aus den Versuchen der Tabelle III hervor.

Tabelle II.

Blutuntersuchung bei Patient F. F. Caries.

Datum	Gesamtblut			Plasma		Blutkörperchen berechnet		Bemerkung
	Blutk. vol.	Chlor (NaCl)	Zucker	Chlor (NaCl)	Zucker	Chlor (NaCl)	Zucker	
2. IX. 1920	43,9	0,242 0,242 (0,415)		0,358 0,358 (0,597)		0,095 (0,156)		1 g Na-Citrat auf 100 ccm Blut
6. IX. 1920	44,0	0,248 0,248 (0,409)	86,54 86,00	0,379 0,382 (0,632)	151,20 151,60	0,0818 (0,135)	Spuren	"
10. IX. 1920	44,0	0,250 0,250 (0,412)		0,380 0,380 (0,627)		0,084 (0,138)		"
6. IX. 1920	43,0	0,245 0,245 (0,433)		0,429 0,429 (0,779)		0		0,05 g Hirudin a. 100 ccm Blut

Wir unterscheiden uns von der Auffassung von Brinkman und van Dam auch in folgendem: Wir haben es in unserer ersten Mitteilung vermieden, von einer Impermeabilität der Blutkörperchen für Chlor, Zucker und Reststickstoff zu sprechen, sondern wir haben nur behauptet, daß wir in den Blutkörperchen des

Tabelle III.

Vergleich zwischen ungerinnbar gemachtem und defibriniertem Blute.

Datum	Bezeichnung	Ungerinnbar gemacht durch Na-Citral oder Hirudin							Defibriniert durch Schütteln mit Glasperlen					
		Gesamtblut				Plasma			Gesamtblut			Serum		
		Blutk.-vol.	Chlor	D	Rest-N	Chlor	D	Rest-N	Chlor	D	Rest-N	Chlor	D	Rest-N
28. V. 1920	Pferdeblut		0,271			0,482			0,278			0,424		
31. III. 1920	Berau normal	41,2				0,400						0,391		
30. III. 1920	Geltner Nephr.	48,8	0,225		98,18	0,369		120,6	0,224		99,10	0,370		
16. III. 1920	Schuster Nephr.	46,5	0,243			0,480			0,246			0,470		
18. III. 1920	Ochsenblut		0,260			0,503			0,262			0,500		
5. III. 1920	Marie Pohler		0,243			0,479			0,246			0,510		
27. VIII. 1920	Ochsenblut	44,3		80,41		0,378	143,3	22,47		80,11				
20. IX. 1920	D. Mathias Diab. mel.	42,7	0,221	230,6		0,382	375,9						381,5	

Blutes unter physiologischen Verhältnissen diese Substanzen nicht oder höchstens nur in Spuren finden. Wir halten es sogar, ohne dies beweisen zu können, für wahrscheinlich, daß die Blutkörperchen auch im strömendem Blute für diese Substanzen durchgängig sind. Dies gilt besonders für den Zucker. Wir glauben, daß die Blutkörperchen, wie jede lebende Zelle, den Nährstoff Zucker aufnehmen, nur sind wir der Ansicht, daß sie ihn sofort verbrennen, oder, wie dies von den weißen Blutkörperchen bekannt ist, in eine kolloidale Form (Glykogen) umsetzen. Was das Chlor anbelangt, so können wir nur sagen, daß jedenfalls größere Mengen von Chlor nicht in den Blutkörperchen vorhanden sind. Spuren von Chlor entziehen sich bei der von uns angewandten indirekten Methode natürlich dem Nachweis. Was endlich die Reststickstoffkörper anbelangt, so ist doch wohl anzunehmen, daß die Blutkörperchen auch stickstoffhaltige Nährstoffe (Aminosäuren) aufnehmen, nur glauben wir, daß sie sie sofort zu Eiweiß aufbauen, und ebenso ist es wahrscheinlich, daß die beim Abbau von Eiweiß freiwerdenden Aminosäuren die Blutkörperchen rasch wieder verlassen.

Während also Brinkman und E. van Dam im großen und ganzen zu den gleichen Resultaten kommen wie wir, teilen, wie oben erwähnt, eine Anzahl dänischer Forscher in kurzen vorläufigen Mitteilungen mit, daß sie unsere Befunde nicht bestätigen können. Wir müssen es uns hier versagen, auf diese Mitteilungen näher einzugehen, bis das ausführliche Zahlmaterial vorliegen wird; wir möchten aber folgendes bemerken:

1. Seit Veröffentlichung unserer ersten Arbeit haben wir diese Untersuchungen an einem großen Material fortgesetzt (wir geben einige Beispiele in Tabelle IV und V) und haben sie auch noch auf andere Substanzen ausgedehnt. Was das Cholesterin anbelangt, so hat sich gezeigt, daß das Gesamtcholesterin ziemlich gleichmäßig auf Plasma und Körperchen verteilt ist, daß aber die Ester sich ausschließlich im Plasma befinden. Es bildet also die Blutkörperchenmembran für die Ester eine Scheidewand. Es hat sich ferner gezeigt, daß auch die Kalksalze ausschließlich im Plasma vorhanden sind*). Mit der Untersuchung der anorganischen Phosphate, des Kaliums und des Natriums, sind wir gegenwärtig beschäftigt und können nur so viel sagen,

*) Wiener Arch. f. inn. Med. 2.

Tabelle IV.

Chemische Blutanalysen von Tierbluten.

Datum	Bezeichnung	Gesamtblut			Plasma		Blutkörperch.		Bemerkung
		Blutk.-vol.	Chlor (NaCl)	Zucker	Chlor (NaCl)	Zucker	Chlor (NaCl)	Zucker	
23. VIII. 1919	Ochsenblut	40,0	0,197 (0,326)		0,327 (0,541)		0		1 g Na-Citrat a. 100 ccm Blut
27. VIII. 1920	„	44,3		80,41 80,41		143,2 143,4		θ	„
13. III. 1920	„	46,6	0,157 (0,260)		0,304 (0,503)		0		„

daß in einer Reihe von Fällen, deren Zahl allerdings noch nicht sehr groß ist, die Blutkörperchen frei von Natrium und anorganischen Phosphaten gefunden wurden. Dies gilt nur für normale Ver-

Tabelle V.

Chemische Blutuntersuchung bei nierengesunden erwachsenen Menschen.

Datum	Name	Diagnose	Gesamtblut				Plasma			Blutkörperchen berechnet			Blutkörperchenvol. berechnet aus
			Blutk.-vol.	Chlor (NaCl)	Zucker	Rest-N	Chlor (NaCl)	Zucker	Rest-N	Chlor (NaCl)	Zucker	Rest-N	
16. IX. 1919	Franz B.	Normal	43,4	0,189 0,189 (0,312)		14,74 14,59	0,310 0,340 (0,562)		26,79 26,89	0		0	Chlor: 43,6 Rest-N: 43,1
18. IX. 1919	Joh. Fr.	Gehellt n. Fleisch-vergiftg.	44,2			10,09 10,20			17,89 17,90	0		0	Chlor: 44,5 Rest-N: 44,1
7. X. 1919	Joh. B.		43,0	0,193 0,193 (0,318)			0,333 0,333 (0,550)			0			Chlor: 43,6
6. XII. 1919	K. Erl	Normal	44,4	0,258 0,258 (0,427)			0,426 0,426 (0,704)			12,8 (21,2)			Chlor: 39,4
11. XII. 1919	Heinrich Must	Normal	43,5	0,255 0,255 (0,421)			0,415 0,415 (0,684)			12,5 (20,6)			Chlor: 38,5
31. I. 1920	Anna M.	Normal	41,4	0,218 0,229 (0,351)			0,364 0,372 (0,615)			0			Chlor: 41,5
20. IX. 1920	Math. Div.	Diab. mell.	42,6 41,9	0,221 0,221 (0,364)	136,80 136,24		0,382 0,382 (0,633)	230,59 230,69		6,06 (10,0)	5,92		Chlor: 42,5 Zucker: 40,0
18. IX. 1920	Robert M.	Normal	45,0	0,209 0,200 (0,335)	80,56 80,42		0,380 0,380 (0,625)	136,8 136,2		0	5,0		Chlor: 45,0 Zucker: 42,0
15. IX. 1920	M.	Diab. mell.	40,3	0,256 0,260 (0,425)	120,47 120,00		0,424 0,400 (0,680)	180,58 180,72		0	12		Chlor: 40,6 Zucker: 43,4
14. IX. 1920	Amalia N.	Apicitis	44,0		84,64 84,00			150,32 151,24			0		Zucker: 44,2

hältnisse. Unter pathologischen Bedingungen kann dies anders sein, wie dies bereits in unserer früheren Arbeit angedeutet wurde.

2. In der Mitteilung der dänischen Autoren finden sich einige Bemerkungen, denen wir widersprechen müssen. Wenn z. B. Ege sagt, daß wir behaupten, daß in die Blutkörperchen keine Elektrolyte eindringen, so unterschiebt er uns eine Behauptung, die wir nie gemacht haben. Wie schon oben erwähnt, haben wir eine absolute Impermeabilität der Blutkörperchen niemals behauptet. Ege gibt selbst an, daß er die Blutkörperchen des Kaninchens, der Ziege, des Hundes und des Rindes frei von Zucker findet; es kann also seine Behauptung nicht richtig sein, daß unsere Anschauung gegen ein allgemeinbiologisches Gesetz verstößt, wenn dieses Gesetz nach Eges eigenen Untersuchungen nicht einmal für alle Blutkörperchen der Säugetierreihe gilt. Gerade der Umstand, daß bei den einzelnen Tierarten früher so große Unterschiede beobachtet wurden, hatte uns seinerzeit veranlaßt, unsere Untersuchungen auszuführen. Wenn Ege in den Blutkörperchen des Hundes und des Rindes keinen Zucker findet, während so viele andere Autoren vor ihm Zucker gefunden haben, so wollen wir dies als einen Fortschritt vermerken.

Literatur.

[1]) Andresen, K. L. Gag., diese Zeitschr. **107**, 250. 1920. — [2]) Boenninger, M., diese Zeitschr. **103**, 306. 1920. — [3]) Brinkman, E., und E. van Dam, diese Zeitschr. **105**, 93. 1920. — [4]) Dieselben, Arch. int. de Phys. **15**, 105. 1919. — [5]) Ege, R., diese Zeitschr. **107**, 246. 1920. — [6]) Falta, W., und M. Richter-Quittner, diese Zeitschr. **100**, 148. 1919. — [7]) Hagedorn, C., diese Zeitschr. **107**, 248. 1920. — [8]) Richter-Quittner, W. Arch. **1**, 425. 1920. — [9]) Warburg, E. T., diese Zeitschr. **107**, 252. 1920.

Über die auxoureatische Funktion des Serums.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 27 November 1920.)

Die soeben erschienene Arbeit von Rona und György[1]) über die Urease gibt mir endlich die längst ersehnte Gelegenheit, auf meine in Gemeinschaft mit M. Falk[2]) und Umeda[3]) angestellten Untersuchungen über die auxoureatische Funktion des Serums nochmals einzugehen. Unsere Beobachtungen haben in der Literatur nicht die Beachtung gefunden, die sie wohl verdienen. Bisher habe ich es unterlassen, noch einmal nachdrücklich auf die interessanten Befunde hinzuweisen, weil Rona[4]) in der Berliner physiologischen Gesellschaft auf Grund seiner Nachprüfung die vorläufige Ansicht ausgesprochen hatte, daß das Serum nur durch seine Puffereigenschaften auxoureatisch wirke. Da ich selbst schon vorher zusammen mit Umeda Versuche mit Puffern angestellt hatte und mir auch sonst aus verschiedenen Gründen Ronas Deutung unserer Versuche unmöglich schien, habe ich gleich danach in meiner ausführlichen Veröffentlichung mit Umeda[1]) den Erklärungsversuch von Rona abgelehnt. Mit einer besonderen Betonung meines Widerspruches wollte ich aber warten, bis die in Aussicht gestellte, ausführliche Mitteilung Ronas vorliegen würde.

Es ist mir nun sehr erfreulich, daß Rona sich von seinem Irrtum überzeugt hat und nach seinen anfänglichen Bedenken jetzt zu einer Bestätigung meiner

[1]) Diese Zeitschrift **111**.

[2]) Diese Zeitschr. **59**.

[3]) Diese Zeitschr. **68**. Vgl. auch Berl. klin. Wochenschr. 1914, Nr. 30.

[4]) Sitzung der Physiolog. Gesellsch. v. 24. VII. 1914. Berl. klin. Wochenschr. 1914, Nr. 33.

Beobachtungen über die auxoureatische Serumfunktion kommt.

Wir hatten gefunden, daß das Serum verschiedener Säugetiere und des Menschen eine ziemlich erhebliche Steigerung der Ureasewirkung zuwege bringt. Die wirksame Substanz des Serums ist keine Urease und wurde deshalb als Auxourease oder Auxosubstanz bezeichnet. „Der Nachweis der Auxosubstanz gelingt", wie schon in der Arbeit von Falk hervorgehoben wurde, „bei 19—24stündigen Fermentversuchen. Die Nachweisbarkeit der Auxosubstanz geht nur bis zu einer unteren Serumgrenze und nicht bei zu kleiner Dauer des Fermentversuches." In der aus unserem Laboratorium hervorgegangenen Arbeit von R. Neumann[1]) und in der Arbeit von Jacoby und Umeda wurde dann noch besonders ausgeführt, daß schon bei 0,1 ccm Serum die Auxowirkung zu erkennen ist.

Eine Tabelle aus Neumanns Arbeit gibt ein anschauliches Bild der Wirkungen verschiedener Serummengen.

Tabelle I.

20 ccm Harnstoff (2%), 10 ccm Soja (0,3%). Brutschrankzeit 22 Stunden.

Normalserum ccm	Phys. NaCl-Lösung ccm	Resultat
—	4,0	6,15
0,1	3,9	37,6
0,5	3,5	76,9
1,0	3,0	79,9
2,0	2,0	81,2
4,0	—	81,8

Auf zahlreiche Einzelheiten von Interesse, die nähere Einblicke in die Wirkung der Auxourease gestatten, braucht hier nicht eingegangen zu werden, da sich alles aus unseren früheren Publikationen klar ergibt.

Unserer Darstellung gegenüber hatte Rona zunächst behauptet, daß er bei gepufferten Fermentlösungen, wenn das Optimum der Reaktion erreicht ist, durch Serum keine Verstärkung der Reaktion mehr erzielen konnte. Seine Versuche waren aber mit kurzer Dauer (2 Stunden) angestellt. Als er aber später

[1]) Diese Zeitschrift **69**.

dieselbe Versuchsdauer wie wir (20 Stunden) anwandte, konnte auch von ihm bei gepufferten Gemischen der Serumeffekt erzielt werden. Wie ich schon erwähnt habe, ist die Bedeutung der Zeit von Anfang an von uns erkannt und auch ausdrücklich hervorgehoben worden.

Versuche mit Phosphatgemischen hatte ich schon im Jahre 1914 vor Ronas erster Mitteilung angestellt, wobei ich von Herrn Leonor Michaelis in freundlichster Weise beraten worden war. Nachdem nun Rona auch bei Innehaltung der Reaktion, soweit das bei Ureaseversuchen überhaupt möglich ist, die Serumwirkung als etwas Neues und Besonderes anerkannt hat, muß man mir wohl allgemein beipflichten, wenn ich behaupte, daß hier eine ganz neue Serumwirkung vorliegt. Dabei handelt es sich um eine sehr wirksame Funktion. Schon bei 0,1 ccm Serum ist sie leicht nachweisbar und sie ist spezifisch. Denn gegenüber der Robinia-Urease ist das Serum unwirksam.

Wir haben also ein neues Moment, das eine Fermentwirkung wesentlich unterstützt, entdeckt. Vom Standpunkt der Serologie aus ist eine Serumfunktion aufgefunden, die vorläufig durchaus nicht unter bekannte Dinge zu rubrizieren ist, sondern als neues Phänomen gewertet werden muß. Schon früher habe ich darauf aufmerksam gemacht, daß vielleicht eine Analogie zu den in meinem Laboratorium von Guggenheimer[1]) aufgefundenen auxoautolytischen Substanzen des Blutserums bestehen könnte.

Hat man ein neues Phänomen sichergestellt, so muß selbstverständlich sofort der Abbau beginnen, d. h. man muß versuchen, es auf Bekanntes zurückzuführen. Manchmal ist das aber nur allmählich möglich und so ist auch in unserem Falle es noch nicht so weit, daß man die Auxourease in bekannte Erscheinungen auflösen könnte. Mit Umeda hatte ich gefunden, daß Aminosäuren sehr energisch auxoureatisch wirken, und zwar unter Bedingungen, die es ausschließen, daß nur Pufferwirkungen der Aminosäuren in Frage kommen. So ist z. B. schon 0,2 g Tyrosin in einer Verdünnung von 55 ccm wirksam.

Bei gepufferten Fermentgemischen hat Rona die Aminosäurewirkung nicht beobachtet. Folgt nun daraus, daß sie überhaupt nicht vorhanden ist? Gewiß nicht. Das nimmt wohl auch Rona nicht an. Rona schreibt nur, er konnte sie — unter den

[1]) Dtsch. Archiv f. klin. Med. **112**. 1913.

von ihm innegehaltenen Versuchsbedingungen — nicht finden. Aber meine Beobachtungen sind jederzeit vollkommen reproduzierbar. Man muß also daran denken, daß bei den jetzt üblichen Untersuchungen der Fermente bei optimaler Reaktion, die durch Puffer (Regulatoren) nach Möglichkeit sichergestellt wird, doch auch wesentliche Einwirkungen auf die Fermentvorgänge übersehen werden können. Diese von mir schon früher geäußerte Ansicht kann und soll natürlich auf Sörensens bahnbrechende Beobachtungen, die Michaelis weitgehend ausgebaut hat, keinen Schatten der Kritik werfen. Seit Sörensens grundlegender Arbeit muß jeder Forscher bei allen biochemischen Vorgängen mit der Reaktion rechnen, wenn er nicht schwerwiegenden Irrtümern unterliegen will. Wort für Wort muß man die Darlegungen von Michaelis in der Einleitung seines Buches über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration unterschreiben. Aber aus Untersuchungen, wie sie soeben von Hahn und Harpuder[1]) veröffentlicht worden sind, ist zu entnehmen, daß auch ein Puffer different in seinen Wirkungen sein kann.

Nur nebenbei sei erwähnt, daß zwischen Versuchen von mir und Umeda, bei denen wir die Wassermenge und die Kochsalzkonzentration von Einfluß fanden, und Versuchen von Rona, der diesen Einfluß bei Anwendung von Phosphatgemischen vermißte, kein Widerspruch besteht.

Interessant ist übrigens in den Versuchen Ronas, daß selbst durch Pufferung bei der Ureasewirkung sich nicht Schwankungen der Reaktion vermeiden lassen.

Wegen der biologischen Wichtigkeit möchte ich noch einmal auf eine schon mehrfach von mir betonte Möglichkeit hinweisen, daß nämlich mit Hilfe von Auxostoffen, die bei Ereignissen wie Gravidität, Erkrankungen oder Immunisierungen aus den Organen ins Blut übertreten, es zu einer spezifischen Einstellung von Serumfermenten kommen kann. Diese Auffassung, mit der ich mich in Gegensatz zu Abderhaldens Anschauungen gestellt hatte, ist für die Lehre von den Abwehrfermenten von Bedeutung. Manche Unklarheit fällt fort, wenn man die Existenz von Auxosubstanzen in Rechnung stellt. Ich sehe keinen Anlaß von meinem Standpunkt abzugehen.

Die wichtige Frage nach der Natur der Serumeinwirkung muß auch heute noch als offen betrachtet werden. Nach wie vor

[1]) Zeitschr. f. Biol. 71.

denke ich daran, daß es sich um eine Wirkung handelt, die das Serum irgendwie mit den Aminosäuren teilt. Dementsprechend fand ich mit Umeda auch Casein und Witte-Pepton auxoureatisch. Nicht an eine Wirkung der Aminogruppe, wie Rona sich ausdrückt, habe ich gedacht, sondern an die Wirkung der Aminosäurekonstitution. Und daran, glaube ich — mögen nun physikalische oder chemische Eigenschaften maßgebend sein —, darf man heute noch festhalten. Früher hatte ich mit Umeda nach Beweisen für eine intermediäre Uraminosäurebildung gefahndet. Aber schon 1915 haben wir berichtet, daß wir eine Einwirkung der Urease auf Uraminosäuren nicht fanden. Rona denkt daran, daß die Serumeiweißkörper als Schutzkolloide das Ferment durch Adsorptionsvorgänge oder durch chemische Bindung vor dem gebildeten Ammoniak schützen. Für seine Vorstellung führt Rona Versuche mit Gelatine an, die aber nicht konstant ausfielen. Nur weitere Versuche werden hier Klarheit schaffen. Aber jedenfalls steht die von Rona und György bestätigte Tatsache fest, daß das Serum die Wirkung der Soja-Urease unterstützt und daß damit ein mindestens bisher neuer Hilfsmechanismus für eine Fermentwirkung und eine neue Serumwirkung aufgedeckt ist.

Über Adrenalinglykämie.

Von

A. Bornstein.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Hamburgischen Universität [Krankenhaus St. Georg].)

(Eingegangen am 27. November 1920.)

Den Anlaß zu nachstehenden Untersuchungen bot ein etwa 23jähriger junger Mann auf der chirurgischen Abteilung unseres Krankenhauses, der an Tuberkulose und einer anscheinend durch Unterernährung hervorgerufenen Spätrachitis litt[1]). Er zeigte außerdem eine eigentümliche Braunfärbung der Haut, die eine Nebennierenerkrankung möglich erscheinen ließ. Es wurde daher vereinbart, die Reaktion des respiratorischen Stoffwechsels auf Adrenalin in diesem Falle zu beobachten, zumal wir glaubten, durch die Arbeit von W. Falta und S. Bernstein[2]) genügend über die normale Reaktion des Gaswechsels auf Adrenalin unterrichtet zu sein. Nach einer Anzahl von Übungsversuchen am Zuntz-Geppertschen Apparat, bei denen der Patient sich als recht geeignet für Respirationsversuche erwies, wurde der folgende Adrenalinversuch angestellt.

Tabelle I.

Brasch. 4. VI. 23 Jahre, Spätrachitis und Tuberkulose.

Nr.	Minut. nach Adrenalin-injektion	Ventilation Liter in d. Minute	CO_2 % in der Exspirationsluft	Pro Min. ccm		R.-Q.	Bemerkungen
				CO_2	O_2		
1	Vorher	5,882	3,19	170,6	194,6	0,876	
2	"	5,800	3,16	168,4	191,9	0,877	
	0—12	8,383	—	—	—	—	1 mg Adrenalin subcutan
3	12—18½	7,533	3,07	209,7	229,2	0,915	
	18½—22	7,714	—	—	—	—	
4	22—29	7,771	3,07	216,1	247,9	0,872	
	29—37	7,75	—	—	—	—	
5	37—44	7,628	3,00	209,2	251,4	0,832	
	73—80	6,400	—	—	—	—	
6	80—88	6,712	3,02	185,9	229,5	0,810	
	88—93	6,500	—	—	—	—	
7	93—102	6,611	3,21	194,1	234,6	0,827	

[1]) Näheres über den Fall in einer Arbeit von Sauer über Spätrachitis. Dtsch. Zeitschr. f. Chir. 1921.

[2]) Falta und Bernstein, Arch. f. klin. Med. **125**.

Nachdem unmittelbar vorher in zwei Respirationsversuchen die Größe des Grundumsatzes festgestellt war, war eigentlich beabsichtigt, etwa 3 Minuten nach der Adrenalininjektion den dritten Versuch zu beginnen, doch trat schon nach 2 Minuten eine gewaltige Steigerung der Lungenventilation von weniger als 6 Liter in der Minute bis zu 10 Litern auf, die einen sofortigen Beginn des Versuches nicht ratsam erscheinen ließ. Nach 10 Minuten war die Lungenventilation zwischen 7 und 8 Litern gleichmäßiger geworden und 12 Minuten nach der Injektion begannen wir den nächsten Versuch, dem noch vier weitere Versuche folgten.

Die Tabelle zeigt nun im ersten Versuche nach Adrenalin eine leichte Erhöhung des respiratorischen Quotienten (R.-Q.). Später sank der R.-Q. schnell zur Norm und darunter. Falta und Bernstein hatten aus einem solchen erhöhten R.-Q. auf eine vermehrte Kohlenhydratverbrennung geschlossen. Dies erschien aber in unserem Falle nicht ohne weiteres erlaubt, da der R.-Q. zu steigen pflegt, wenn die Lungenventilation zunimmt. Das wissen wir aus den Versuchen von Speck[1]), A. Löwy[2]), Bornstein und v. Gartzen[3]) und vielen anderen. Auffallend war ferner der schnelle Rückgang des R.-Q. unter die Norm, während Lungenventilation, Sauerstoffverbrauch und Pulsfrequenz noch deutlich beschleunigt waren, also ein Kreisen unzerstörten Adrenalins im Körper wahrscheinlich war. Es war deswegen nötig:

1. Eine zweite Versuchsreihe am gleichen Patienten anzustellen, in der der Blutzucker mehrmals während der Versuche bestimmt wurde.

2. Weitere Versuche, namentlich auch an normalen Menschen, zu machen, um über das Verhalten der Lungenventilation Aufschluß zu erhalten. In der Arbeit von Falta und Bernstein finden sich nämlich keine Angaben darüber.

Die zweite Versuchsreihe am gleichen Patienten gibt Tabelle II wieder. Der Blutzucker wurde immer nach der letzten Bangschen Mikromethode[4]) bestimmt. Diesmal wurde mit dem Versuch sofort nach der Adrenalininjektion begonnen, um auch die Periode der ersten Atemsteigerung zu erhalten. Diese zeigte eine Steigerung des R.-Q. über 1 hinaus, ein Beweis, daß dieselbe jeden-

[1]) Speck, Physiologie des menschlichen Atems, 1890.
[2]) A. Löwy, Arch. f. d. ges. Physiol. **49**.
[3]) A. Bornstein und v. Gartzen, Arch. f. d. ges. Physiol. **109**, 628.
[4]) Bang, diese Zeitschr. **92**.

Tabelle II.

Brasch, 11. VI.

Nr.	Min. nach Adrenalin-injektion	Ventilation, Liter in d. Min.	Atemzüge	CO_2 % in d. Exspirationsluft	Pro Min. ccm		R.-Q.	Blutzucker %	Bemerkungen
					CO_2	O_2			
1	Vorher	5,978	16,7	3,65	199,5	225,3	0,883		
2	„	6,434	15,5	3,26	191,0	214,7	0,889	0,105	
3	2—8	8,850	17,3	3,14	253,1	230,7	1,097		1 mg Adrenalin subcutan
	9—10	8,700	—	—	—	—	—		
4	10—16	8,550	19,5	3,00	233,3	254,8	0,916		
	16—19	8,400	—	—	—	—	—		
5	19—27	8,275	20,0	3,06	230,2	270,1	0,852	0,216	
6	48—59	6,718	—	—	—	—	—		
7	59—68	6,564	17,0	3,14	187,7	246,6	0,761		
8	70—79	6,694	16,3	3,09	188,2	238,2	0,790	0,185	

falls zum großen Teil nicht auf vermehrter Kohlenhydratverbrennung beruht, denn dabei könnte der R.-Q. nicht über 1 hinaussteigen. Bald sinkt aber der R.-Q. wieder zur Norm, zunächst bei ziemlich gleichbleibender Lungenventilation (Versuch 4 u. 5). In diesen Versuchen werden wir also einen R.-Q. finden, der unabhängig von der Lungenventilation ist, da wir mit A. Löwy annehmen müssen, daß der R.-Q. nach 10—15 Minuten forcierter Atmung wieder zur Norm zurückgekehrt ist. Es findet also in Versuch 5 der Tabelle II sicher keine vermehrte Kohlenhydratverbrennung statt, trotzdem der Blutzucker von 0,105% auf 0,216% gestiegen war. Das gleiche gilt für Versuch 8, bei diesem schwankte wenigstens 22 Minuten vor Beginn des Versuches die Ventilation um $6^1/_2$ Liter herum, der R.-Q. war von 0,886 vor Adrenalinanreicherung auf 0,790 gesunken, es verbrannten also nach Adrenalin weniger Kohlenhydrate als vorher. Das Angebot an Zucker war jedoch auch in Versuch 8 noch immer sehr groß (0,185% Blutzucker gegenüber 0,105% vor Adrenalindarreichung).

Wir fanden also an unserem Kranken:

1. Daß nach Adrenalindarreichung die Lungenventilation stark anstieg, unter Sinken des CO_2-Gehaltes der Exspirationsluft,

2. daß der R.-Q. zunächst stark über 1 stieg, wobei ein Zusammenhang mit einer rein mechanischen, durch die vermehrte Lungenventilation hervorgerufenen CO_2-Abdunstung von den Lungen nicht von der Hand zu weisen war,

3. daß später bei gleichmäßiger Lungenventilation der R.-Q. langsam unter die Norm fiel, daß also eher eine verminderte Kohlenhydratverbrennung eingetreten war. Der Blutzucker war während dieser verminderten Kohlenhydratverbrennung stark erhöht.

Tabelle III.

Bornstein, 22. X. Gewicht 79 kg, 39 Jahre.

Nr.	Min. nach Adrenalin-injektion	Ventilation, Liter in d. Min.	Atemzüge	CO_2 % in d. Exspirationsluft	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R.-Q.	Blutzucker %	Bemerkungen
1	Vorher	6,284	12	4,00	228,7	265,8	0,860		
2	"	6,189	11	4,02	225,5	256,2	0,880	0,096	
3	3—10½	8,360	11	4,14	315,8	307,1	1,028		0,7 mg Adrenalin subcut.
	10½—22	7,600	—	—	—	—	—		
4	22—28	7,717	10	4,04	282,8	305,3	0,926		
	28—33	7,520	—	—	—	—	—		
5	33—40	8,073	10	4,03	294,6	335,7	0,878	0,145	
	40—43	7,228	—	—	—	—	—		
6	43—50	7,357	9	4,34	289,2	335,3	0,863		
	50—57	7,043	—	—	—	—	—		
7	57—65	7,120	9	4,07	262,0	320,5	0,817	0,155	

Es erschien wichtig, noch andere Personen zu untersuchen. Tabelle III gibt zunächst einen Selbstversuch. Ich bin seit 20 Jahren geübt, Respirationsversuche am Zuntz-Geppertschen Apparat von Zeit zu Zeit an mir anstellen zu lassen, und erschien deshalb als eine geeignete Versuchsperson. Die Werte für meinen Grundumsatz sind seit Jahren unverändert. Da ergab sich der gleiche Befund, wie bei dem Patienten der Tabelle I u. II: Steigen des R.-Q. mit steigender Lungenventilation, und zwar über die Einheit; dann bei gleichmäßig erhöht bleibender Ventilation Sinken des R.-Q. zur Norm und darunter. Also auch beim normalen Menschen verminderte Kohlenhydratverbrennung nach Adrenalin unter Ansteigen des Blutzuckers von 0,096% auf 0,155%.

In diesem Falle ist der CO_2-Gehalt der Exspirationsluft während des Adrenalinversuches nicht gesunken; es ist also scheinbar keine Möglichkeit einer Erhöhung der CO_2-Abdunstung infolge verminderter CO_2-Spannung. Es ist aber zu bedenken, daß es eigentlich nicht auf den CO_2-Gehalt der Exspirationsluft, sondern den der Alveolarluft ankommt. Nimmt man den schädlichen Lungenraum mit A. Löwy zu 140 ccm an, so berechnet sich die alveolare CO_2-Spannung vor Adrenalin (Vers. 1 u. 2)

zu 5,54% CO_2, nach Adrenalin (Vers. 3) zu 5,04% CO_2. Die Möglichkeit einer CO_2-Abdunstung ist also vorhanden. Die gleiche Rechnung läßt sich auch für die Versuche der Tabelle IV vornehmen.

Tabelle IV.

Fräulein Nafzger, 4. VIII. Gewicht 65 kg, 23 Jahre.

Nr.	Min. nach Adrenalin-injektion	Ventilation, Liter in d. Min.	Atemzüge	CO_2% in d. Exspirationsluft	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R.-Q.	Blutzucker %	Bemerkungen
1	Vorher	5,558	13	3,38	167,4	201,6	0,830		
2	"	5,190	12,7	3,51	162,3	198,4	0,818	0,105	Blutdr. 104 mm
3	2—8½	8,262	16	3,36	247,0	226,6	1,090		0,8 mg Adrenalin subcutan
4	9—16	7,200	14	3,40	217,5	242,1	0,898		Blutdr. 125 mm
5	17—25	7,550	13	3,52	235,8	265,9	0,887		
	30—35	7,500	—	—	—	—	—		Blutdr. 123 mm
6	35—42	7,143	14	3,29	208,7	273,6	0,763	0,187	
	65—75	6,400	—	—	—	—	—		
7	75—84	6,106	12	3,44	186,9	234,8	0,796	0,146	
	99—104	5,840	—	—	—	—	—		
8	104—114	6,233	14,5	3,19	176,8	210,2	0,841		

Der Versuch der Tabelle IV ist an einer gesunden Studentin 12 Stunden nach der letzten Mahlzeit (wie alle anderen vorhergehenden und alle später zu beschreibenden Versuche) angestellt, nachdem an vorhergehenden Tagen Übungsversuche angestellt waren. Er ergab ein gleiches Resultat wie der vorhergehende Versuch und bedarf deswegen keiner besonderen Besprechung.

Tabelle V.

Frau Haack, 2. VIII.

Nr.	Min. nach Adrenalin-injektion	Ventilation, Liter in d. Min.	Atemzüge	CO_2% in d. Exspirationsluft	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R.-Q.	Blutzucker %	Bemerkungen
1	Vorher	5,533	14,8	3,70	183,9	230,3	0,799		
2	"	5,785	17,7	3,50	181,6	224,1	0,810	0,108	
3	0—7	7,643	21,0	3,52	241,4	271,3	0,890		0,75 mg Adrenalin subcutan
4	8—15	9,243	25,0	3,46	286,4	286,5	0,999		
5	16—22½	9,031	23,0	3,39	237,6	284,1	0,963		25–27′ sow. 37–38′ stark. Trem. u. Unruhe (Angstgef.)
	40—46	6,000	—	—	—	—	—		
6	46—52	8,443	27,0	3,21	242,5	335,2	0,723	0,241	Ventilat. anfangs ca. 7 l, letzte 3 Min. ansteigen bis 10 l
	64—71	5,186	—	—	—	—	—	—	
7	71—79	6,24	16,5	3,40	190,1	287,7	0,661		

Die Patientin der Tabelle V befand sich wegen nervöser Beschwerden in Behandlung. Sie reagierte mit starken nervösen Erscheinungen auf die Adrenalininjektion (Tremor, Angstgefühl).

Entsprechend war die Atmung unregelmäßig. In Versuch 6 und 7 dieser Tabelle war die Lungenventilation im Ansteigen begriffen; trotzdem ist der R.-Q. beträchtlich niedriger als in den Normalversuchen 1 und 2. Dabei zeigt der Anstieg des Blutzuckers von 0 108 auf 0,241%, wie wenig Blutzucker und Kohlenhydratverbrennung bei der Adrenalinglykämie einander parallel gehen.

Tabelle VI.

Frau Krebs, 23. VII. Akromegalie.

Nummer	Min. nach Adrenalininjektion	Ventilation, Liter in d. Min.	Atemzüge	CO_2% in d. Exspirationsluft	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R.-Q.	Blutzucker %	Bemerkungen
1	Vorher	5,758	11,7	5,07	256,0	285,2	0,898	0,083	
2	1—8½	7,133	12,5	4,13	258,0	266,0	0,962		0,5 mg Adrenalin
3	9—15½	7,462	14,5	3,84	251,0	268,9	0,934		Tremor d. Hände
	15½—20	6,260	—	—	—	—	—		
4	20—28	6,675	14,2	3,85	225,5	271,8	0,830	0,187	AndauerndTremor

Tabelle VII.

Hund, 1. IX.

Nr.	Min. nach Adrenalininjektion	Ventilation, Liter in d. Min.	Atemzüge	CO_2% in d. Exspirationsluft	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R.-Q.	Blutzucker %	Bemerkungen
1	Vorher	0,959	14,0	2,97	25,9	36,3	0,713	0,09	40 mg Adrenalin subcutan
2	6—20	0,929	14,2	2,95	24,9	37,3	0,667	0,14	

Bei der Patientin Tabelle VI handelt es sich um einen typischen Fall von Akromegalie. Die Reaktion auf Adrenalin ist anscheinend die gleiche wie in den früheren Fällen. Bei dem Versuch Tabelle VII an einem kleinen Hunde wurde die für einen Hund geringe Adrenalinmenge von 4 mg gegeben. Es kam dabei zu keiner Vertiefung der Atmung, die übrigens auch beim Hunde sonst die Regel bildet, und so sank schon frühzeitig der R.-Q. bei ansteigendem Zuckergehalt des Blutes.

Die absolute Größe des respiratorischen Stoffwechsels bedarf noch einer kurzen Besprechung. Überall ist eine Steigerung des

O_2-Verbrauchs vorhanden die jedenfalls durch die vermehrte Atemarbeit nicht erklärt wird. In einzelnen Versuchen ist mehr oder weniger starker Tremor notiert; aber auch dieser Befund genügt nicht zur Erklärung der Oxydationsvermehrung, denn diese ist auch in den Versuchen vorhanden, in denen Tremor nicht bestand, z. B. in dem Selbstversuch. Wir dürften ohne die Annahme einer Vermehrung der allgemeinen Oxydation kaum auskommen. Über diesen Punkt sind jedoch weitere Versuche in Vorbereitung. Hervorzuheben ist, daß öfters die höchsten Werte für den O_2-Verbrauch erst erreicht werden, wenn die Atemvolumina schon im Rückgang begriffen sind (siehe z. B. Tabelle IV).

Die auffallendste Tatsache, der wir begegnet sind, ist zweifellos der völlige Mangel eines Parallelismus zwischen Zuckergehalt des Blutes und Kohlenhydratverbrennung. Dadurch unterscheidet sich die Adrenalinglykämie prinzipiell von der Nahrungsglykämie. Schon bei einer mittleren Vermehrung des Blutzuckers nach Kohlenhydratnahrung kommt es zu einer entsprechenden Erhöhung des R.-Q. Als Beispiel dafür diene ein Selbstversuch, der in Tabelle VIII wiedergegeben ist.

Tabelle VIII.

Bornstein, 2. X.

Nr.	Versuchsart	Ventilation Liter in d. Min.	Pro Minute ccm CO_2	Pro Minute ccm O_2	R.-Q.	Blutzucker %
1	Nüchtern	5,781	230,8	272,4	0,847	0,104
2	1 Std. nach 250 g Brot	6,514	256,5	283,9	0,904	0,144

Die Hyperglykämie nach Adrenalin war in unseren Versuchen beträchtlich größer als die Nahrungshyperglykämie. Wenn sie gleichwohl nicht mit einer Vermehrung der Kohlenhydratverbrennung verbunden war, so muß das besondere Gründe haben, von deren Erkenntnis wir noch sehr weit entfernt sind. Ich möchte jedoch schon hier darauf hinweisen, daß noch eine andere medikamentöse Glykämie, die ich untersucht habe, ein ähnliches Verhalten zeigt, nämlich die Morphiumglykämie. Es lassen sich die Glykämien in 2 Gruppen einteilen:

1. Glykämien, die mit einer Vermehrung der Kohlenhydratverbrennung einhergehen (Nahrungsmittelglykämie).

2. Glykämien, die mit keiner Vermehrung, häufig sogar mit einer Verminderung der Kohlenhydratverbrennung einhergehen (medikamentöse Glykämien: Adrenalin, Morphium; ferner gewisse Fälle von schwerem Diabetes mellitus).

Bei der Adrenalinglykämie selbst spielen nach unseren Untersuchungen zwei anscheinend selbständige Vorgänge eine Rolle. Zunächst wird das Glykogen aus der Leber ausgeschüttet und erscheint als Traubenzucker im Blute und in den Gewebsflüssigkeiten. Dann aber setzt ein zweiter Prozeß ein, der in einer Zurückdrängung oder, wenn man so will, einer mehr oder weniger starken Lähmung des Kohlenhydratabbaus besteht.

Zusammenfassung.

1. Adrenalin bewirkt eine Vermehrung der Lungenventilation und dadurch verminderte Alveolartension des CO_2 und vermehrte Abdunstung von CO_2 aus den Lungen; dadurch steigt der respiratorische Quotient (R.-Q.) zunächst an, ohne daß man berechtigt ist, aus diesem Anstieg des R.-Q. eine vermehrte Kohlenhydratverbrennung zu folgern.

2. Bei gleichbleibender Atemmechanik sinkt dann nach wenigen Minuten der R.-Q. zur Norm oder meist unter die Norm, während eine starke Hyperglykämie besteht. Die Adrenalinglykämie geht also in diesem Stadium sicher nicht mit einer vermehrten Kohlenhydratverbrennung einher.

3. Adrenalin bewirkt ferner eine bedeutende Vermehrung des Sauerstoffverbrauchs.

Über den Einfluß von Fluornatrium auf die Wirkung der Pankreasdiastase[1]).

Von

S. Lang und H. Lang (Karlsbad).

(*Eingegangen am 29. November 1920.*)

Der Einfluß verschiedener chemischer Agentien auf die Wirkung diastatischer Fermente ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen, deren häufig widerspruchsvolle Resultate sich nach mancher Richtung zu klären beginnen.

Es kann heute als gesicherte Tatsache gelten, daß die Wirkung tierischer Diastasen an die Gegenwart einer gewissen Menge Neutralsalz gebunden ist und durch gewisse Salze, besonders Chlornatrium, verstärkt wird [Preti[2]), Wohlgemuth[3]), Starkenstein[4]), Kendall und Sherman[5]), Bang[6]), Bierry[7]), L. Michaelis und Pechstein[8]) u. a.), sehr empfindlich auf Änderung der H'-Ionenkonzentration anspricht (Starkenstein[9]), W. E. Ringer[10]), E. Přibram[11]), L. Michaelis und Pechstein[12]), L. Adler[13]), Sherman und Walker[14]), Sherman, Thomas und Baldwin[15])], aber auch durch die Natur der zugesetzten Anionen beeinflußt

---

[1]) Die der Arbeit zugrunde liegenden Versuche waren im Frühjahr 1915 bereits abgeschlossen.

[2]) L. Preti, diese Zeitschr. **4**. 1907.

[3]) J. Wohlgemuth, diese Zeitschr. **9**. 1908 und **39**. 1912.

[4]) E. Starkenstein, diese Zeitschr. **24**. 1910 und **40**. 1912.

[5]) Kendall und Sherman, Chem. Centralbl. **2**, 1411. 1910.

[6]) J. Bang, diese Zeitschr. **32**. 1911.

[7]) H. Bierry, diese Zeitschr. **40**. 1912.

[8]) L. Michaelis und H. Pechstein, diese Zeitschr. **59**. 1914.

[9]) E. Starkenstein, l. c.

[10]) W. E. Ringer, Zeitschr. f. physiol. Chemie **82**. 1912.

[11]) E. Přibram, diese Zeitschr. **44**. 1912.

[12]) L. Michaelis und H. Pechstein, l. c.

[13]) L. Adler, diese Zeitschr. **77**. 1916.

[14]) Sherman und Walker, Journ. Americ. Chem. Soc. **39**. 1917.

[15]) Sherman, Thomas und Baldwin, Chem. Centralbl. **3/4**, 1071. 1919.

wird [Ringer[1]), Kopaczewski[2]), Rockwood[3])]. Hingegen sind die in der Literatur vorhandenen Angaben über die Wirkung der Fluorsalze, die seit den Untersuchungen Effronts ein besonderes Interesse beanspruchten, noch recht widerspruchsvoll. So fanden u. a. Grützner und Wachsmann[4]) eine Förderung der Pankreasdiastase durch Fluorsalze, Wohlgemuth[5]) eine deutliche Hemmung der Pankreasamylase, Treyer[6]) für Maltase und Kopaczewski[7]) für Takadiastase eine Förderung, ebenso Doby[8]) eine Förderung der Kartoffelamylase, Rockwood[9]) eine hemmende Wirkung auf Ptyalin, während nach Doxiades[10]) die Maltase des Blutes durch Fluornatrium weniger beeinträchtigt wird als durch andere Antiseptica.

Diese verschiedenen Angaben erfahren eine Aufklärung zum Teil durch den jetzt nicht mehr zu bezweifelnden Unterschied zwischen tierischen und pflanzlichen Diastasen, zum Teil durch die Verschiedenheit der zur quantitativen Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit angewandten Methodik, die nur über eine Komponente Aufschluß gab oder überhaupt nicht einwandfrei war (wie z. B. die Bestimmung der absoluten Größe der Reduktion ohne Berücksichtigung der Gegenwart zweier verschieden reduzierender Substanzen); wir haben daher im Verlaufe von Untersuchungen über den Fluorgehalt des Karlsbader Wassers, die noch nicht abgeschlossen sind, eine Aufklärung dieser Verhältnisse erneut in Angriff genommen.

II.

Eine solche ließ sich erhoffen, wenn als Maß der diastatischen Wirksamkeit die Endprodukte dieses Vorganges, die chemisch wohlcharakterisierte Körper darstellen — Maltose als Endglied der Amylase- (bzw. Dextrinase-) Wirkung, Glucose als Endprodukt der Maltase-Einwirkung —, nebeneinander quantitativ bestimmt würden. Denn wie der eine[11]) von uns an anderer Stelle durch

[1]) Ringer, l. c.
[2]) W. Kopaczewski, diese Zeitschr. **67**. 1914.
[3]) Rockwood, Chem. Centralbl. **3/4**, Nr. 20. 1919.
[4]) P. Grützner und Wachsmann, Arch. f. d. ges. Physiol. **91**. 1902.
[5]) J. Wohlgemuth, l. c.
[6]) Treyer, zit. nach Kopaczewski; das Original war uns unzugänglich.
[7]) W. Kopaczewski, diese Zeitschr. **44**. 1912.
[8]) G. Doby, diese Zeitschr. **67**. 1914.
[9]) Rockwood, l. c.
[10]) L. Doxiades, diese Zeitschr. **32**. 1911.
[11]) S. Lang, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **8**. 1910.

umfangreiche Versuche erwiesen hat, kann das Verhalten der Jodreaktion als zuverlässiger Maßstab des Umfangs diastatischer Prozesse nicht in Betracht kommen[1]), weil die Geschwindigkeit, mit der Veränderungen der Jodreaktion eintreten, keineswegs parallel geht mit der Menge der gebildeten Endprodukte oder der Schnelligkeit, mit der diese gebildet werden. So hatte sich z. B. erweisen lassen, daß Hafer- und Weizenstärke ein langdauerndes Stadium der Dextrinisierung durchlaufen, d. h. also, daß die Jodreaktion nur langsam verschwindet, während die Bildung von Maltose (bzw. Glucose) sehr rasch und in großem Umfange erfolgt; im schlagenden Gegensatze dazu verschwindet bei der löslichen Stärke die Jodreaktion in auffallend kurzer Zeit, während die Zuckerbildung in derselben Zeit sowie insbesondere im Vergleiche zur Hafer- und Weizenstärke langsamer und in kleinerem Maßstabe vor sich geht. Es erscheint also namentlich für vergleichende Untersuchungen[2]) wohl begründet, zur Beurteilung des quantitativen Ablaufs des diastatischen Prozesses die Bestimmung der gebildeten Endprodukte zu wählen.

III.

Die Ausführung unserer Versuche gestaltete sich in folgender Weise:

Als Fermentlösungen dienten Extrakte von Rinderpankreas[3]), hergestellt durch feines Zerhacken der sorgfältig von Fett befreiten Drüse, Verreiben mit Quarzsand und Schütteln mit Chloroformwasser; die Extrakte wurden mit Toluol versetzt und im Eisschrank aufbewahrt; vor dem Gebrauche wurden sie zentrifugiert und filtriert. Als Substrate wurden Hafer-

[1]) Diese wichtige Tatsache ist seither von einer Reihe anderer Autoren gleichfalls hervorgehoben worden; u. a. von Wohl und Glimm (diese Zeitschr. **27**. 1910), von J. Chrzaszcz und Terlikowski (Wochenschr. f. Brauerei 1912), von Sherman und Schlesinger (Chem. Centralbl. 1914, S. 269), L. Adler (l. c.) und besonders durch J. Chrzaszcz und Joscht (diese Zeitschr. **80**. 1917).

[2]) Würde sich die stärkeverflüssigende Wirkung der Diastase als Äußerung eines selbständigen Fermentes ohne feste Beziehung zur Amylase (Dextrinase) oder Maltase auch für tierische Diastasen erweisen, wie es durch die Untersuchungen von J. Chrzaszcz und Joscht für die Malzdiastase wahrscheinlich gemacht wurde, so könnte diese Komponente diastatischer Wirkung mit der angegebenen Methode nicht bestimmt werden.

[3]) Herrn Schlachthofdirektor Dr. Messner danken wir verbindlichst auch an dieser Stelle für seine freundlichen Bemühungen, denen wir die frischen Drüsen gesunder Tiere verdanken.

und lösliche Stärke benutzt, erstere, weil sie, wie früher nachgewiesen[1]), rasch und in großem Ausmaß zu diffusiblem Kohlehydrat (Maltose) abgebaut wird, wobei relativ spät Glucose auftritt, letztere[2]), weil sie langsam der Verzuckerung unterliegt, wobei frühzeitig Glucosebildung erfolgt.

In eine Reihe von Kölbchen wurde genau 1 (eventuell 2) g Stärke eingewogen, jedes mit 10 ccm Wasser, die mit Ausnahme der Kontrollprobe, verschiedene, genau bestimmte Mengen von Natriumfluorid[3]) enthielten, beschickt und nachher mit der gleichen Menge Pankreasextrakt (10—15 ccm) sowie mit 5 ccm Toluol versetzt; die Kölbchen wurden dann verschlossen und gleichzeitig in einen auf 39° C eingestellten Thermostaten gebracht, wo sie (unter öfterem Umschütteln) eine bestimmte Zeit verblieben. Nach Ablauf der Versuchszeit wurde in den Digestionsflüssigkeiten die Menge von Maltose und Glucose bestimmt. Dazu diente ein Verfahren, das von dem einen von uns[4]) früher ausgearbeitet und erprobt, hier kurz wiederholt sei.

Zur gleichzeitigen Fällung von Dextrinen und Eiweißkörpern (des Pankreasextraktes) wird der Inhalt der Kölbchen mit dem 8—10fachen Volumen 96proz. Alkohol gefällt, nach längerem Stehen vom Niederschlag abfiltriert, ein bestimmter Teil des klaren Filtrates unter Zusatz von zwei Tropfen Essigsäure eingedampft bzw. konzentriert, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, auf ein bestimmtes Volumen gebracht und nach längerem Stehen im Eiskasten filtriert; in diesen klaren Filtraten wurde der Zuckergehalt durch Polarisation und Titration (nach Pavy-Kumagawa-Suto) ermittelt und die Menge an Maltose und Glucose nach folgenden Gleichungen berechnet:

$$x + \frac{138}{52{,}6}\, y = \frac{100\,\alpha}{2 \cdot 52{,}6}$$

$$x + r\,y = b\,,$$

worin x = der Prozengehalt an Glucose,
y = der Prozentgehalt an Maltose,
α = der beobachtete Drehungswinkel (im 2-dm-Rohr),
b = die aus der Titration berechnete Prozentmenge Glucose,
r = der Reduktionsfaktor wasserfreier Maltose,
138 = die spezifische Drehung der Maltose,
52,6 = die spezifische Drehung der Glucose.

Der Reduktionsfaktor der Maltose für Pavysche Lösung war zu ermitteln; er wurde für jede einzelne frisch hergestellte Lösung besonders bestimmt und in die Gleichung zur Berechnung jener Versuchsreihen eingesetzt, in denen diese Pavysche Lösung benutzt wurde.

---

[1]) S. Lang, l. c.

[2]) Die benutzte lösliche Stärke zeigte für sich keine Spur einer Reduktion von Fehlingscher Lösung.

[3]) Das verwendete Natriumfluorid (Kahlbaumsches Präparat) reagierte neutral sowohl gegen Phenolphthalein als auch gegen Methylorange.

[4]) S. Lang, l. c.

Es folgt nun ein Beispiel seiner Bestimmung:

Reine Maltose (Merck) wurde aus Alkohol unter Zusatz von wenig Wasser umkrystallisiert, mit Methylalkohol gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. 0,1878 g Maltosehydrat (entsprechend 0,1784 g wasserfreier Maltose) werden in 50 ccm Wasser gelöst; von dieser Lösung werden für 20 ccm Pavylösung verbraucht 6,15 ccm; daraus berechnet sich $r = 45{,}56$.

0,1887 g Maltosehydrat (entsprechend 0,1800 g wasserfreier Maltose) in 50 ccm H_2O gelöst, zur Reduktion von 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 6,1 ccm; daraus ergibt sich $r = 45{,}53$.

Für andere Lösungen wurde r zu 45,27 ermittelt.

Die Gleichungen lauten also in vereinfachter Form:

$$x + 2{,}6235\,y = 0{,}9505\,\alpha$$
$$x + 0{,}4527\,y = b\,,$$

woraus $y\% = \dfrac{0{,}9505\,\alpha - b}{2{,}1708}$ und $x\% = 0{,}9505\,\alpha - 2{,}6235\,y$

oder $y\% = 0{,}4379\,\alpha - 0{,}46066\,b$, $x\% = 1{,}2085\,b - 0{,}19824\,\alpha$.

Versuch I: Pankreasextrakt A[1]): 150 g Rinderpankreas werden nach entsprechender Vorbereitung mit 400 ccm Chloroformwasser geschüttelt.

Versuchsdauer: 4 Stunden.

In fünf kleine Erlenmeyerkölbchen wird je 1 g Haferstärke abgewogen, dazu in eines 10 ccm H_2O, in die anderen je 10 ccm H_2O, in denen 1, 2, 5, 10 mg Natriumfluorid gelöst sind, gegeben und alle mit 10 ccm Pankreasextrakt sowie 5 ccm Toluol versetzt. Alle Kölbchen wurden gleichzeitig in einen auf 39° C eingestellten Thermostaten gebracht und nach vierstündigem Aufenthalt gleichzeitig demselben entnommen. Nun wird der Inhalt der Kölbchen mit 96% Alkohol versetzt, unter Nachspülung mit Alkohol in einen Maßkolben von 200 ccm überführt, mit 96 proz. Alkohol auf 200 ccm aufgefüllt, nach längerem Absitzen filtriert; vom klaren Filtrate werden 100 ccm in eine Porzellanschale abgemessen, mit zwei Tropfen Essigsäure versetzt und auf ein kleines Volumen eingedampft (etwa 5—10 ccm); der Rückstand wird mit Wasser quantitativ in ein Maßkölbchen von 50 ccm gebracht, genau aufgefüllt und nach längerem Stehen (6—12 Stunden) im Eiskasten filtriert; das klare Filtrat wird polarisiert und (wenn nötig, nach geeigneter Verdünnung) mit Pavyscher Lösung titriert. (Bei der Wahl der angegebenen Volumina ergeben die durch Berechnung erhaltenen Prozentzahlen auch gleichzeitig die in der Ausgangsflüssigkeit vorhandene Menge an Maltose und Glucose in Gramm.)

Kölbchen 1: 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,70°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung wurden verbraucht 9,35 ccm, entsprechend 0,1071% Glucose. Die Berechnung nach den Gleichungen $x + 2{,}6235\,y = 0{,}6654$, $x + 0{,}4725\,y = 0{,}1071$ ergibt für y (Maltose) = 0,257 g, x (Glucose) = 0.

Kölbchen 2: 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enthaltend 1 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. In der gleichen Weise verarbeitet. Polari-

[1]) Die ein und demselben Pankreas entstammenden Extrakte sind mit demselben großen Buchstaben bezeichnet.

sation: 0,69°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 9,65 ccm = 0,104% Glucose. Maltose = 0,254 g, Glucose = 0.

Kölbchen 3: 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enthaltend 2 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,64°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 9,45 ccm = 0,1058% Glucose. Maltose = 0,235 g, Glucose = 0.

Kölbchen 4: 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enthaltend 5 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,66°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 10,1 ccm = 0,0983% Glucose. Maltose = 0,243 g, Glucose = 0.

Kölbchen 5: 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enthaltend 10 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,60°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 9,25 ccm = 0,108% Glucose. Maltose = 0,213 g, Glucose = 0,01 g.

Da in diesem Versuche die Glucosebildung erst in Nr. 5 in sehr geringem Umfange einsetzt, wurde, um diese deutlicher hervortreten zu lassen, ein zweiter Versuch unter denselben Bedingungen mit längerer Digestionsdauer angesetzt.

Versuch II: Pankreasextrakt A. Versuchsdauer: 24 Stunden.

1. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,25°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 4,9 ccm = 0,2041% Glucose. Maltose = 0,453 g, Glucose = 0.

2. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 1 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,25°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 4,9 ccm = 0,2041% Glucose. Maltose = 0,453 g, Glucose = 0.

3. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 2 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,13°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 4,7 ccm = 0,2128% Glucose. Maltose = 0,3968 g, Glucose = 0,033 g.

4. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 5 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,14°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 4,5 ccm = 0,2222% Glucose. Maltose = 0,3968 g, Glucose = 0,043 g.

5. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 10 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,03°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 5,25 ccm = 0,1905% Glucose. Maltose = 0,3633 g, Glucose = 0,026 g

Es folgt nun ein ähnlicher Versuch mit etwas verändertem Fluorzusatz und anderem Pankreasextrakt.

Versuch III: Pankreasextrakt B. Versuchsdauer: 39 Stunden.

1. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,07°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 5,55 ccm = 0,1803% Glucose. Maltose = 0,385 g, Glucose = 0 (0,006 g?).

2. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 3 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,01°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 5,25 ccm = 0,1905% Glucose. Maltose = 0,3545 g, Glucose = 0,03 g.

3. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 5 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,07°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung

verbraucht 5,3 ccm = 0,1887% Glucose. Maltose = 0,3816 g, Glucose = 0,016 g.

4. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 7 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,95°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 5,7 ccm = 0,1754% Glucose. Maltose = 0,3352 g, Glucose = 0,0237 g.

5. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 15 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Glucose. Polarisation: 0,71°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 7,3 ccm = 0,1370% Glucose. Maltose = 0,2478 g, Glucose = 0,024 g.

Zur besseren Übersicht der gewonnenen Resultate folgen diese 3 Versuche in tabellarischer Form.

In Stab *a* sind die Mengen zugesetzten Fluornatriums angegeben, „ohne" bedeutet die Kontrollprobe ohne Fluornatriumzusatz; in Stab *e* ist die Summe der gebildeten Kohlenhydrate als Maltose aufgeführt, indem die gefundene Glucosemenge auf Maltose umgerechnet und zur Menge der gebildeten Maltose hinzugezählt wurde (Gesamtmaltose = Gesamtkohlenhydrate); in Stab *f* sind die Prozentanteile der als Maltose berechneten Glucose an der Gesamtmaltose, in Stab *g* die unter Fluorzusatz gebildeten Mengen von Gesamtkohlenhydrat als Prozente der ohne Fluorzusatz gebildeten Gesamtkohlenhydrate dargestellt.

Versuch I: 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (+ NaF) + 10 ccm Pankreasextrakt + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer 4 Stunden; Extrakt A.

a Zusatz von NaF in g	*b* Gehalt an NaF in %	*c* Maltose	*d* Glucose	*e* Summe der gebildeten Kohlenhydrate (Glucose als Maltose berechnet)	*f* Glucosezunahme in % der Gesamtmaltose	*g* % der Gesamtkohlenhydrate
ohne	0	0,257	0	0,257	—	100
0,001	0,005	0,254	0	0,254	—	98,8
0,002	0,01	0,235	0	0,235	—	91,4
0,005	0,025	0,243	0	0,243	—	94,5
0,01	0,05	0,213	0,01	0,2225	4	86,6
Versuch II: Versuchsdauer 24 Stunden; Extrakt A.						
ohne	—	0,453	0	0,453	—	100
0,001	0,005	0,453	0	0,453	—	100
0,002	0,01	0,3968	0,033 (= 0,0313 Malt.)	0,4281	7,4	94,5
0,005	0,025	0,3968	0,043	0,4376	9,3	96,4
0,01	0,05	0,3633	0,026	0,388	6,3	85,5
Versuch III: Versuchsdauer 39 Stunden; Extrakt B.						
ohne	—	0,3855	0,006 (= 0,0057 Malt.)	0,391	—	100
0,003	0,015	0,3545	0,03 (= 0,0285 Malt.)	0,383	7,4	99,3
0,005	0,025	0,3816	0,018 (= 0,017 Malt.)	0,3986	4,5	101,9
0,007	0,035	0,3352	0,0237 (= 0,0225 Malt.)	0,357	6,3	92,7
0,015	0,075	0,2478	0,0248 (= 0,0236 Malt.)	0,271	8,7	70,4

Die Tabelle gestattet zunächst eine allgemeine Orientierung: Mit steigendem Fluorzusatz fällt die Menge der gebildeten Kohlenhydrate langsam, was übersichtlich aus Stab *g* hervorgeht; jedoch findet sich zwischen 1 und 5 mg NaF ein Schwanken der Werte für die Gesamtkohlenhydrate, das wegen des geringen Ausschlages in diesen Versuchen nicht mit Sicherheit beurteilt werden kann. Konstant zeigt sich bei Zusatz von 5 mg NaF eine kleine Förderung, die in Versuch I und II relativ ist, in Versuch III sogar etwas über den Anfangswert hinausgeht. Diese Erscheinung soll im Zusammenhange mit späteren Versuchen besprochen werden. Größere Mengen als 5 mg NaF zeigen sicher fortschreitende Hemmung. Als besonders auffallende Fluorwirkung ergibt sich ein früheres Einsetzen der Glucosebildung, die bei längerer Versuchsdauer besonders deutlich wird. Während in den Kontrollproben der Versuche I und II eine Glucosebildung überhaupt nicht, in jener des Versuches III nur in quantitativ unbestimmbaren Spuren stattgefunden hat, finden sich in Versuch I bei 4stündiger Versuchsdauer die ersten Spuren der Glucosebildung bei einem NaF-Gehalte von 0,05%, in Versuch II mit 24stündiger Versuchsdauer bei einem NaF-Gehalte von 0,01%, in Versuch III bei dem kleinsten für diesen Versuch gewählten Fluornatriumzusatz von 0,015% mit deutlich bestimmbaren Glucosemengen.

Der Abbau der Haferstärke durch das diastatische Ferment erfolgt, wie diese Versuche in vollkommener Übereinstimmung mit früheren[1]) erweisen, durch ein langdauerndes, aber bald einsetzendes Maltosestadium, während die Glucosebildung spät beginnt und nur langsam fortschreitet. Fluorsalze beeinflussen letzteren Vorgang im Sinne einer relativen Förderung. Nähere Einsicht in den quantitativen Ablauf dieses Förderungsprozesses ließ sich beim Abbau der löslichen Stärke erwarten, von der früher[1]) festgestellt wurde, daß sie zwar langsamer in die löslichen Kohlenhydrate zerfällt, aber die Glucosebildung frühzeitig (meist gleichzeitig mit der Maltosebildung) und reichlicher erfolgt.

Versuch IV: Pankreasextrakt B. Versuchsdauer: 64 Stunden.

1. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,46°. Titration: Für 20 ccm Pavy-Lösung verbraucht 9 ccm = 0,1111% Glucose. Maltose = 0,1502 g, Glucose = 0,043 g.

[1]) S. Lang, l. c.

2. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 2 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,38°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 8,25 ccm = 0,1212% Glucose. Maltose = 0,1105 g, Glucose = 0,0712 g.

3. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 4 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,31°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 9,1 ccm = 0,1099% Glucose. Maltose = 0,0851 g, Glucose = 0,071 g.

4. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 6 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,34°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 8,35 ccm = 0,1198% Glucose. Maltose = 0,0937 g, Glucose = 0,0774 g.

5. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 10 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,23°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 9,85 ccm = 0,1015% Glucose. Maltose = 0,0539 g, Glucose = 0,077 g.

6. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 20 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,23°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 11 cm = 0,0909% Glucose. Maltose = 0,0588 g, Glucose = 0,0643 g.

Es sei nun gleich ein zweiter Versuch mit der doppelten Menge löslicher Stärke angeschlossen.

Versuch V: Pankreasextrakt C. Versuchsdauer: 40 Stunden.

1. 2 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,76°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 4,9 ccm = 0,2041% Glucose. Maltose = 0,2387 g, Glucose = 0,096 g.

2. 2 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 1 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,80°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 4,8 ccm = 0,2083% Glucose. Maltose = 0,2543 g, Glucose = 0,093 g.

3. 2 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 4 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,77°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 4,3 ccm = 0,2325% Glucose. Maltose = 0,2300 g, Glucose = 0,1284 g.

4. 2 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 8 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,63°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,2 ccm Glucose. Maltose = 0,1873 g, Glucose = 0,1075 g.

5. 2 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 16 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,59°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,65 ccm. Maltose = 0,1768 g, Glucose = 0,0970 g.

6. 2 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 20 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,50°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 6,2 ccm. Maltose = 0,1446 g, Glucose = 0,0958 g.

7. 2 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 30 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,40°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 6,3 ccm. Maltose = 0,1023 g, Glucose = 0,1125 g.

8. 2 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 50 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,31°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 6,75 ccm. Maltose = 0,0675 g, Glucose = 0,1176 g.

Das Ergebnis dieser Versuche ist übersichtlich in folgender Tabelle zusammengestellt.

Versuch IV: 1 g lösliche Stärke + 10 ccm H_2O(+ NaF) + 10 ccm Pankreasextrakt + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer: 64 Stunden; Pankreasextrakt B.

Zusatz von NaF in mg	Gehalt an NaF in %	Maltose	Glucose	Summe von M+G (letzt. als Maltose berechnet)	Glucosezunahme in % d. Gesamtmaltose	% der gebildeten Gesamtzucker
ohne	—	0,1502	0,043	0,1911	21,4	100
2	0,01	0,1105	0,0712	0,1781	37,9	93,2
4	0,02	0,0851	0,0714	0,1529	44,3	80,0
6	0,03	0,0937	0,0774	0,1672	43,9	87,5
10	0,05	0,0539	0,0771	0,1271	57,6	66,4
20	0,1	0,0588	0,0643	0,1199	50,9	62,7

Versuch V: 2 g lösliche Stärke + 10 ccm H_2O(+ NaF) + 10 ccm Pankreasextrakt + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer: 40 Stunden; Pankreasextrakt C.

ohne	—	0,2387	0,096	0,3299	27,6	100
1	0,005	0,2543	0,093	0,3426	25,8	103,8
4	0,02	0,2300	0,1284	0,352	34,5	106,7
8	0,04	0,1873	0,1075	0,2894	35,3	87,7
16	0,08	0,1768	0 097	0,2689	34,2	81,5
20	0,1	0,1446	0,0958	0.2356	38,6	71,4
30	0,15	0,1023	0,1125	0,2091	51,1	63,3
50	0,25	0,0675	0,1176	0,1792	62,3	54,3

Der Voraussetzung entsprechend läßt sich beim Abbau der löslichen Stärke die Beeinflussung der Glucosebildung unter Fluorwirkung leichter überblicken, da das Auftreten von Glucose frühzeitig und in nachweisbaren Mengen erfolgt. So sind in Versuch IV ohne Fluorzusatz bereits 21%, in Versuch V 27% des gebildeten Gesamtzuckers in Form von Glucose vorhanden. Mit steigendem Fluorgehalt steigt der Prozentanteil der Glucose, der in Versuch IV zwischen 10 und 20 mg Fluor sein Maximum erreicht, in Versuch V beim höchsten Fluorzusatz von 50 mg noch keine Abnahme erkennen läßt. In beiden Versuchen nimmt die Menge des Gesamtzuckers mit zunehmendem Fluorgehalte ab, wobei in Versuch IV bei 6 mg die Hemmung geringer ausfällt als bei 4 mg, in Versuch V zwischen 1 und 4 mg sogar eine kleine absolute Steigerung des Gesamtzuckers erkennbar ist.

Im ganzen tritt also wiederum eine deutliche Hemmung des diastatischen Gesamtprozesses in Erscheinung, wobei der prozentische Anteil der Glucose am gebildeten Gesamtzucker größer wird.

Der folgende Versuch soll über den Einfluß größerer Fluornatriummengen Aufschluß geben:

Versuch VI: Pankreasextrakt F (240 g Pankreas auf 750 ccm Chloroformwasser). Versuchsdauer: $64^1/_2$ Stunden.

Da dieser Pankreasextrakt für sich eine geringe Linksdrehung zeigte, wurde die zu den Versuchen verwendete Menge unter Beachtung der Volumsverhältnisse der Versuche gleichlanger Digestion unterworfen.

1. 15 ccm PE. + 5 ccm H_2O + 5 ccm Toluol. In derselben Weise wie die anderen Proben mit Alkohol gefällt und weiter verarbeitet. Polarisation: — 0,03°.

2. 2 g lösl. Stärke + 5 ccm H_2O + 15 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,87 + 0,03 = 0,90°. Titration: 30 ccm auf 50 ccm verdünnt; davon für 20 ccm PL. verbraucht 7,4 ccm = 0,2252% Glucose in der ursprünglichen Flüssigkeit. Maltose = 0,290 g, Glucose = 0,0938 g.

3. 2 g lösl. Stärke + 5 ccm H_2O (enth. 40 mg NaF) + 15 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,52 + 0,03 = 0,55°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,6 ccm = 0,1785% Glucose. Maltose = 0,1585 g, Glucose = 0,1068 g.

4. 2 g lösl. Stärke + 5 ccm H_2O (enth. 50 mg NaF) + 15 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,50 + 0,03 = 0,53°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,6 ccm = 0,1785% Glucose. Maltose = 0,1498 g, Glucose = 0,1108 g.

5. 2 g lösl. Stärke + 5 ccm H_2O (enth. 100 mg NaF) + 15 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,38 + 0,03 = 0,41°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 7,0 ccm = 0,1428% Glucose. Maltose = 0,1137 g, Glucose = 0,0914 g.

6. 2 g lösl. Stärke + 5 ccm H_2O (enth. 200 mg NaF) + 15 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,30 + 0,03 = 0,33°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 8,6 ccm = 0,1162% Glucose. Maltose = 0,0909 g, Glucose 0,0752 g.

Folgende Tabelle veranschaulicht das Ergebnis dieses Versuches.

Versuch VI: 2 g lösliche Stärke + 5 ccm H_2O (+ NaF) + 15 ccm P. E. + 5 ccm Toluol Pankreasextrakt F. Versuchsdauer: $64^1/_2$ Stunden.

	Zusatz an NaF in mg	Gehalt an NaF in %	Maltose	Glucose	Summe von M + G (Gesamtzucker)	Glucosezunahme in % der Gesamtmaltose	Prozent des gebildeten Gesamtzuckers
2.	ohne	—	0,2903	0,0938	0,3794	23,5	100
3.	40	0,2	0,1585	0,1068	0,2599	39	68,7
4.	50	0,25	0,1498	0,1108	0,2550	41,2	67
5.	100	0,5	0,1137	0,0914	0,2005	43,3	52,8
6.	200	1,0	0,0908	0,0752	0,1622	45,0	41,7

Zunächst zeigt die Tabelle, daß auch hohe Fluorzusätze (bis zu 1%) die Fermenttätigkeit nicht völlig aufheben, wenn auch wesentlich herabsetzen; so sinkt die Menge des gebildeten Gesamtzuckers bei Zusatz von 200 mg NaF (1,0%) auf 41% der ursprünglichen Menge; auch erfolgt bei den höheren Fluorzusätzen eine Hemmung der absoluten Glucosebildung. Im übrigen ist das

Ergebnis ganz ähnlich wie in den früheren Versuchen: Mit steigendem Fluorzusatz fällt stetig die Gesamtzuckermenge, während der Prozentanteil der Glucose sich vermehrt, allerdings trotz großer Differenz der gewählten Fluorzusätze nur in kleinerer Progression. (Das Intervall von 50—100 mg sowie von 100 bis 200 mg NaF bedingt nur eine Steigerung der relativen Glucosebildung um 2%.) Nun folgen 2 Parallelversuche, welche den Einfluß kleiner und größerer Fluorzusätze unter genau denselben Bedingungen bei verschieden langer Digestionszeit zeigen sowie über den Eintritt der Hemmung für Glucosebildung Aufschluß geben sollen.

Versuch VII: Pankreasextrakt G (340 g Rinderpankreas auf 1000 ccm Chloroformwasser). Versuchsdauer: $17^1/_2$ Stunden.

1. 10 ccm H O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: — 0,03°.

2. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,95 + 0,03 = 0,98°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 6,4 ccm = 0,1562 % Glucose. Maltose = 0,357 g, Glucose = 0.

3. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 2 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,06 + 0,03 = 1,09°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 6,0 ccm = 0,1666% Glucose. Maltose = 0,400 g, Glucose = 0.

4. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 4 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,08 + 0,03 = 1,11°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,55 ccm = 0,1818% Glucose. Maltose = 0,401 g, Glucose = 0.

5. 1 g Haferstärke + 10 ccm H O (enth. 6 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 10,7 + 0,03 = 1,10°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,9 ccm = 0,1695% Glucose. Maltose = 0,403 g, Glucose = 0.

6. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 8 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,00 + 0,03 = 1,03°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 6,0 ccm = 0,1666% Glucose. Maltose = 0,374 g, Glucose = 0.

7. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 10 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,95 + 0,03 = 0,98°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 6,5 ccm = 0,1538% Glucose. Maltose = 0,358 g, Glucose = 0.

8. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 20 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,85 + 0,03 = 0,88°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 7,2 ccm = 0,1388% Glucose. Maltose = 0,321 g, Glucose = 0.

9. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 50 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,59 + 0,03 = 0,62°. Titration: Für

20 ccm PL. verbraucht 9,5 ccm = 0,1052% Glucose. Maltose = 0,223 g, Glucose = 0,004 g (?).[1])

10. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 100 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,43 + 0,03 = 0,46°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 12,65 ccm = 0,0790% Glucose. Maltose = 0,165 g, Glucose: = 0,004 g (?).

11. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 200 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,34 + 0,03 = 0,37°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 15,9 ccm = 0,0683% Glucose. Maltose = 0,133 g, Glucose = 0,002 g (?).

12. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 400 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,34 + 0,03 = 0,37°. Titration: 30 ccm eingedampft auf 15 ccm; davon für 20 ccm PL. verbraucht 8,2 ccm; Glucose in der ursprünglichen Flüssigkeit = 0,0609%. Maltose = 0,133 g, Glucose = 0.

Versuch VIII: Pankreasextrakt G. Versuchsdauer: 89 Stunden.

1. 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: — 0,04°.

2. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,30 + 0,04 = 1,34°. Titration: 30 ccm auf 50 ccm verdünnt; davon für 20 ccm PL. verbraucht 6,15 ccm = 0,271% Glucose. Maltose = 0,462 g, Glucose = 0,0618 g.

3. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 2 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,30 + 0,04 = 1,34°. Titration: Genau wie bei 2. Maltose = 0,461 g, Glucose = 0,0618 g.

4. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 4 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,30 + 0,14 = 1,34°. Titration: 30 ccm auf 50 ccm verdünnt; für 20 ccm PL. verbraucht 6,15 ccm = 0,271% Glucose. Maltose = 0,462 g, Glucose = 0,0618 g.

5. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 6 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,27 + 0,04 = 1,31°. Titration: 30 ccm auf 50 ccm verdünnt; für 20 ccm PL. verbraucht 6,15 ccm = 0,271 % Glucose. Maltose = 0,4488 g, Glucose = 0,0679 g.

6. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 8 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,04 + 0,04 = 1,08°. Titration verunglückt.

7. 1 g Haferstärke + 10 ccm H O (enth. 10 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 1,12 + 0,04 = 1,16°. Titration: 30 ccm auf 50 ccm verdünnt; für 20 ccm PL. verbraucht 6,75 ccm = 0,2469% Glucose. Maltose = 0,3942 g, Glucose = 0,0689 g.

8. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 20 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,76 + 0,04 = 0,80°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,1 ccm = 0,1960% Glucose. Maltose = 0,2600 g, Glucose = 0,0783 g.

9. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 50 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,46 + 0,04 = 0,50°. Titration: Für 20 ccm

[1]) Die hier wie in der Tabelle mit Fragezeichen versehenen Werte fallen innerhalb der Versuchsfehler; es handelt sich um Spuren von Glucose.

PL. verbraucht 6,75 ccm = 0,1481% Glucose. Maltose = 0,1507 g, Glucose = 0,799 g.

10. 1 g Haferstärke + und 10 ccm H_2O (enth. 100 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,28 + 0,04 = 0,32°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 7,9 ccm = 0,1265% Glucose. Maltose = 0,0817 g, Glucose = 0,0898 g.

11. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 200 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,26 + 0,04 = 0,30°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 9,65 ccm = 0,1036% Glucose. Maltose = 0,0836 g, Glucose = 0,065 g.

12. 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (enth. 400 mg NaF.) + 10 ccm PE + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,26 + 0,04 = 0,30°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 13,2 ccm = 0,0757% Glucose. Maltose = 0,0967 g, Glucose = 0,032 g (?).

Versuch VII: 1 g Haferstärke + 10 ccm H_2O (+NaF) + 10 ccm Pankreasextrakt + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer: 17½ Stunden. Pankreasextrakt G.

	Zusatz von NaF in mg	Gehalt an NaF in %	Maltose	Glucose	Summe von M + G (letzt. als Maltose berechn.)	Glocusezunahme in % der Gesamtmaltose	Prozent des gebildeten Gesamtzuckers
2.	ohne	—	0,357	0	0,357	0	100
3.	2	0,01	0,4005	0	0,4001	0	112
4.	4	0,02	0,402	0	0,401	0	112
5.	6	0,03	0,403	0	0,403	0	112
6.	8	0,04	0,3743	0	0,3743	0	104,8
7.	10	0,05	0,3582	0	0,3582	0	100,2
8.	20	0,1	0,3213	0	0,3213	0	89,9
9.	50	0,25	0,223	0,0043 (?)	0,2270	1,8 (?)	63,5
10.	100	0,5	0,1650	0,0043 (?)	0,1690	3,8 (?)	47,3
11.	200	1,0	0,1330	0,0027 (?)	0,1356 (?)	1,8 (?)	37,9
12.	400	2,0	0,1339	0,0004 (?)	0,134	0 (?)	37,6

Versuch VIII. Dieselben Ansätze wie in Versuch VII mit demselben Pankreasextrakt. Versuchsdauer 89 Stunden.

2.	ohne	—	0,4620	0,0618	0,5207	11,27	100
3.	2	0,01	0,4620	0,0618	0,5207	11,27	100
4.	4	0,02	0,4620	0,0618	0,5207	11,27	100
5.	6	0,03	0,4488 ungefähr	0,0679	0,5133	12,56	98,5
6.	8	0,04	0,39	—	—	—	—
7.	10	0,05	0,3942	0,0684	0,4591	14,1	88,1
8.	20	0,1	0,2600	0,0783	0,3343	22,2	64,2
9.	50	0,25	0,1507	0,0799	0,2266	33,5	43,5
10.	100	0,5	0,0817	0,0898	0,1669	51,0	32,0
11.	200	1,0	0,0836	0,0658	0,1462	42,8	28
12.	400	2,0	0,0967	0,032 (?)	0,126	23,3 (?)	24

In diesen beiden Versuchen kommt der Einfluß fortlaufend zunehmender Fluorkonzentration sehr deutlich zum Ausdruck. Bei Zusatz kleiner Fluormengen (zwischen 2 und 8 mg NaF) zeigt sich im kürzerdauernden Versuche VII eine deutliche För-

derung der Maltosebildung, die außerhalb der Versuchsfehler gelegen ist; im Versuche VIII mit längerer Digestionsdauer bleibt bei ähnlichen Fluormengen (2—6 mg NaF) der Umfang der Maltosebildung unverändert. Dann folgt in beiden Versuchen eine fortlaufende Abnahme der Maltosemengen, parallel mit der Zunahme der Fluorkonzentration, ohne daß eine vollständige Hemmung selbst bei den höchsten Fluorkonzentrationen (2%) in Erscheinung tritt. Vergleicht man die in Versuch VII gebildeten Maltosemengen bei den Fluorkonzentrationen von 20 mg aufwärts (sub 8. bis 12.) mit jenen des Versuches VIII (sub 8. bis 12.), so scheint auffallenderweise die Hemmung der Maltosebildung bei längerer Digestionsdauer stärker ausgesprochen zu sein; die entsprechenden Zahlen für die Mengen des gebildeten Gesamtzuckers (Gesamtmaltose) lassen jedoch ohne weiteres erkennen (in Versuch VII, 8—0,32 g; in Versuch VIII, 8—0,33 g; in Versuch VII, 9—0,22 g; in Versuch VIII, 9—0,22 g; in Versuch VII, 10—0,16 g; in Versuch VIII, 10—0,16 g usw.), daß der Umfang der Gesamtzuckerbildung der gleiche ist; in Versuch VIII ist eben nur ein größerer Anteil in Form von Glucose vorhanden.

Was die Glucosebildung anbelangt, so erreicht sie bei der kürzeren Digestionsdauer in Versuch VII erst unter höheren Fluorzusätzen einen nur geringen, quantitativ nicht bestimmbaren Umfang, doch erscheint bemerkenswert, daß die sub 3., 4., 5., 6. zweifellos vorhandene Förderung des diastatischen Prozesses nicht zum Auftreten von Glucose führt. Bei längerer Versuchszeit (Versuch VIII) sind in der fluorfreien Kontrollprobe bereits 11% des Gesamtzuckers als Glucose vorhanden; hier läßt sich das charakteristische Verhalten der Glucosebildung verfolgen. Schon bei einem Gehalte von 0,03% NaF beginnt sie zu steigen (hier absolut und relativ) und erreicht bei Zusatz von 0,5% NaF mit 51% der Gesamtmaltose ein Maximum, um bei den höchsten Fluorzusätzen (1—2%) wieder langsam abzusinken. Dabei zeigt sich die merkwürdige Erscheinung, daß die schon unter starker Hemmungswirkung gebildeten geringen Maltosemengen mit dem Sinken der prozentischen Glucosebildung eine geringe, aber sicher nachweisbare Schwankung zu einer Zunahme aufweisen; so beträgt in Versuch VII bei einem Zusatz von 200 mg NaF die absolute Menge der Maltose 0,133 g, während sie beim doppelten Zusatz 0,134 g beträgt, also trotz des erheblich vermehrten NaF-Zusatzes

keinesfalls eine Abnahme erkennen läßt, in Versuch VIII bei Zusatz von 100 mg NaF 0,0817 g, bei 200 mg NaF 0,083 g, bei 400 mg 0,096 g. (Noch deutlicher zeigt sich diese Erscheinung in den beiden folgenden Versuchsreihen IX und X.) Da die Gesamtzuckerbildung trotzdem fortlaufend abnimmt — entsprechend der mit steigendem Fluorgehalte wachsenden Hemmung des diastatischen Gesamtprozesses —, kann aus dem erwähnten Verhalten nicht etwa auf eine durch große Fluormengen herbeigeführte Herabsetzung der Hemmungswirkung geschlossen werden.

Nun folgen 2 Versuchsreihen, in denen, parallel mit den Haferstärkeversuchen (VII und VIII) lösliche Stärke unter denselben Bedingungen verschieden langer Digestion unterworfen wurde.

Versuch IX: Pankreasextrakt H (180 g Rinderpankreas auf 540 ccm Chloroformwasser). Versuchsdauer: $88^1/_2$ Stunden.

1. 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: — 0,01°.

2. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,48 + 0,01 = 0,49°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 7,675 ccm (Mittel aus 7,65 und 7,70 ccm) = 0,1303% Glucose. Maltose = 0,1545 g, Glucose = 0,0603 g.

3. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 2 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Verunglückt.

4. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 6 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,41 + 0,01 = 0,42°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 7,45 ccm = 0,1342% Glucose. Maltose = 0,1220 g, Glucose = 0,0790 g.

5. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 10 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,36 + 0,01 = 0,37°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 7,35 ccm = 0,1360% Glucose. Maltose = 0,0993 g, Glucose = 0,0911 g.

6. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 50 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,19 + 0,01 = 0,20°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 9,1 ccm = 0,1099% Glucose. Maltose = 0,0369 g, Glucose = 0,0932 g.

7. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 100 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,17 + 0,01 = 0,18°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 11,35 ccm = 0,0881% Glucose. Maltose = 0,0382 g, Glucose = 0,0708 g.

8. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 200 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,17 + 0,01 = 0,18°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 11,4 ccm = 0,0877% Glucose. Maltose = 0,0382 g, Glucose = 0,0708 g.

9. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 400 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,20 + 0,01 = 0,21°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 15,4 ccm = 0,0649% Glucose. Maltose = 0,0620 g, Glucose = 0,0371 g.

Versuch X: Pankreasextrakt H. Versuchsdauer 256¼ Stunden.

1. 10 ccm H O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: −0,03°.

2. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,42 + 0,03 = 0,45°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,7 ccm = 0,1754% Glucose. Maltose = 0,1162 g, Glucose = 0,1228 g.

3. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 2 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,47 + 0,03 = 0,50°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,1 ccm = 0,1966% Glucose. Maltose = 0,128 g, Glucose = 0,1379 g.

4. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 6 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,38 + 0,03 = 0,41°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,2 ccm = 0,1923% Glucose. Maltose = 0,0909 g, Glucose = 0,1512 g.

5. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 10 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,37 + 0,03 = 0,40°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 5,65 ccm = 0,177% Glucose. Maltose = 0,0936 g, Glucose = 0,1348 g.

6. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 50 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,22 + 0,03 = 0,25°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 7,0 ccm = 0,1428% Glucose. Maltose = 0,0436 g, Glucose = 0,123 g.

7. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 100 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,19 + 0,03 = 0,22°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 7,65 ccm = 0,1307% Glucose. Maltose = 0,0361 g, Glucose = 0,1143 g.

8. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 200 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,17 + 0,03 = 0,20°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 9,35 ccm = 0,1069% Glucose. Maltose = 0,0383 g, Glucose = 0,0896 g.

9. 1 g lösl. Stärke + 10 ccm H_2O (enth. 400 mg NaF) + 10 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Polarisation: 0,17 + 0,03 = 0,20°. Titration: Für 20 ccm PL. verbraucht 12,6 ccm = 0,0793% Glucose. Maltose = 0,051 g, Glucose = 0,056 g.

Es folgt wieder die tabellarische Anordnung der Resultate.

Versuch IX: 1 g lösliche Stärke + 10 ccm H_2O (+ NaF) + 10 ccm Pankreasextrakt + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer: 88½ Stunden; Extrakt H.

Zusatz an NaF in mg	Gehalt an NaF in %	Maltose	Glucose	Summe von M+G (letzt. als Maltose berechnet)	Glucosezunahme in % der Gesamtmaltose	Prozent des gebildeten Gesamtzuckers
2. ohne	—	0,1545	0,0603	0,2117	27,0	100
3. 2	0,01	verunglückt				
4. 6	0,03	0,1220	0,0790	0,1970	36,3	93
5. 10	0,05	0,0993	0,0911	0,1858	46,5	87,7
6. 50	0,25	0,0369	0,0932	0,1254	70,5	59,2
7. 100	0,5	0,0382	0,0708	0,1054	63,8	49,7
8. 200	1,0	0,0382	0,0708	0,1054	63,8	49,7
9. 400	2,0	0,0619	0,0371	0,0972	37,0	45,9

Versuch X: Dieselben Ansätze wie in IX mit demselben Pankreasextrakt. Versuchsdauer: 256½ Stunden.

Zusatz an NaF in mg	Gehalt an NaF in %	Maltose	Glucose	Summe von M + G (letzt. als Maltose berechnet)	Glucosezunahme in % der Gesamtmaltose	Prozent des gebildeten Gesamtzuckers
2. ohne	—	0,1162	0,1228	0,2328	50,0	100
3. 2	0,01	0,1280	0,1379	0,2590	53.2	111
4. 6	0,03	0,0909	0,1512	0.2367	60,6	101,6
5. 10	0,05	0,0931	0.1348	0,2212	57,8	95
6. 50	0,25	0,0436	0,1230	0,1605	72,8	68,9
7. 100	0,5	0,0361	0,1143	0,1447	75,0	62,1
8. 200	1,0	0,0383	0,0896	0,1234	69,0	52,9
9. 400	2,0	0,0510	0,056	0,1042	51	44,7

Aus der Tabelle erhellt wieder die mit wachsendem Fluorzusatz fortschreitende Hemmung der Gesamtzuckerbildung, welch letztere in Versuch X zwischen 2 und 6 mg NaF-Zusatz eine gewisse Zunahme erkennen läßt (111—101%), wie in den Versuchen V und VII.

Die Glucosebildung hat in Versuch IX, 2. ohne Fluorzusatz bereits 27% der Gesamtzuckerbildung erreicht; unter Fluorzusatz steigt sie nun allmählich bis 70% bei einem Fluorgehalt von 50 mg und fällt dann bei höherem Fluorgehalt ab; in Versuch X setzt bei langer Versuchsdauer die Glucose bereits mit 50% des Gesamtzuckers ein und steigt bei 100 mg (0,5%) NaF bis auf 75%. Wie in den vorausgehenden Versuchen zeigt sich hier besonders ausgeprägt eine geringe Zunahme der bei höheren Fluorzusätzen gebildeten Maltose, die in dem Momente einsetzt, in dem die Prozentmenge der gebildeten Glucose zu fallen beginnt. So beträgt die Menge der bei einem Fluorzusatze von 100 mg gebildeten Maltose (Glucosezunahme 63%) 0,038 g, gegenüber 0,037 g bei nur halb so großem Fluorzusatz (mit der maximalen Glucosezunahme von 70%), und noch ausgeprägter bei einem Zusatz von 400 mg NaF (Glucosezunahme 37%) 0,06 g gegenüber 0,038 g bei einem Zusatz von 200 mg sowie 100 mg NaF (Glucosezunahme 63%); der Zeitpunkt dieser scheinbaren Umkehr des diastatischen Prozesses ist hier durch das Konstantbleiben aller Zuckerwerte bei einem Zusatz von 100 und 200 mg NaF besonders deutlich markiert. Ebenso ist in Versuch X mit dem Beginn des Abfalls der Glucosebildung die Maltosemenge sub 8. beim Zusatz von 200 mg NaF größer als sub 7. bei einem Zusatz von 100 mg und sub 9. bei 400 mg NaF mit stärkerem Abfall der Glucosebildung

erheblich größer (0,05 g Maltose) als sub 7. und 8. bei der halben bzw. viertel so großen Fluormenge (0,038 g bzw. 0,037 g Maltose).

Daß diese bei großen Fluorzusätzen im Zusammenhange mit der Abnahme der Glucosebildung auftretende Zunahme der Maltosemenge etwa einer Reversionswirkung der Maltase zuzuschreiben sei, war von vornherein unwahrscheinlich; in unseren Versuchen ist die Konzentration der Zuckerlösung bedeutend geringer und die Dauer der Fermenteinwirkung viel kürzer, als nach den Versuchen von Croft Hill u. a. zur Maltosebildung durch diastatische Reversion erforderlich ist. Trotzdem haben wir durch eigene Versuche diese Möglichkeit auszuschließen versucht.

Glucoselösungen wurden in solchen Konzentrationen, wie sie sich in unseren Versuchen vorfinden, unter Zusatz größerer und kleiner Fluormengen mit Pankreasextrakt versetzt und der Digestion unterworfen.

Versuch XI: Glucoselösung 2,03%. Pankreasextrakt F. Versuchsdauer: $16^1/_2$ Stunden.

1. 15 ccm H_2O + 20 ccm PE. + 5 ccm Toluol. Drehung: − 0,17°.
2. 10 ccm Glucoselösung + 20 ccm PE. + 5 ccm H_2O + 5 ccm Toluol. Drehung: 0,43 + 0,17 = 0,60°.
3. 10 ccm Glucoselösung + 20 ccm PE. + 5 ccm H_2O (enth. 10 mg NaF) + 5 ccm Toluol. Drehung: 0,43 + 0,17 = 0,60°.
4. 10 ccm Glucoselösung + 20 ccm PE. + 5 ccm H_2O (enth. 50 mg NaF) + 5 ccm Toluol. Drehung: 0,43 + 0,17 = 0,60°.

Versuch XII: Glucoselösung 1,6%. Pankreasextrakt J. Versuchsdauer: 115 Stunden. Die Digestionsflüssigkeiten wurden ohne Zusatz filtriert und polarisiert.

1. 20 ccm H_2O + 10 ccm PE. + 3 ccm Toluol. Drehung: − 0,18°.
2. 5 ccm Glucoselösung (enth. 0,08 g Glucose) + 10 ccm PE. + 15 ccm H_2O (enth. 75 mg NaF) + 3 ccm Toluol. Drehung: 0,10 + 0,18 = 0,28°.
3. 5 ccm Glucoselösung + 10 ccm PE. + 15 ccm H_2O (enth. 150 mg NaF) + 3 ccm Toluol. Drehung: 0,10 + 0,18 = 0,28°.
4. 5 ccm Glucoselösung + 10 ccm PE. + 15 ccm H_2O (enth. 300 mg NaF) + 3 ccm Toluol. Drehung: 0,11 + 0,18 = 0,29°.
5. 5 ccm Glucoselösung + 10 ccm PE. + 15 ccm H_2O (enth. 600 mg NaF) + 3 ccm Toluol. Drehung: 0,10 + 0,18 = 0,28°.

Da 0,08 g Glucose (in 30 ccm Flüssigkeit gelöst) eine Drehung von 0,28° aufweisen, ist in keinem der Versuche eine sichere Drehungszunahme erfolgt.

Eine synthetische Maltosebildung ist also auch nach dem Ausfall dieser beiden Versuchsgruppen mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen. Die erwähnte Zunahme der Maltosebildung muß daher auf anderen Ursachen beruhen, wahrscheinlich auf einer später näher zu erörternden Beziehung zwischen dem diastatischen Fermente im engeren Sinne und der Maltase.

Vergleicht man die in den Versuchen VII und VIII (Haferstärke) gebildeten Glucosemengen mit jenen der Versuche IX und X (lösliche Stärke), so ergibt sich, daß bei der Haferstärke die Prozentanteile der Glucose auch unter hohem Fluorzusatz viel geringer sind als bei der löslichen Stärke, für welche die Zahlen absolut und besonders relativ hoch sind. Es entspricht dies dem bereits mehrfach betonten Unterschiede im Verhalten der beiden Stärkearten gegen das diastatische Ferment. Auf dieselbe Ursache ist auch folgende, beim Vergleiche der Versuche VII—X auffallende Erscheinung zurückzuführen: Während im Versuche X mit langer Digestionsdauer der Umfang der Gesamtzuckerbildung trotz ihrer Verlangsamung durch eben dieselben Fluorzusätze durchwegs größer ist als in jenem mit kürzerer Versuchsdauer (IX), sind die in den Haferstärkeversuchen (VII und VIII) bei den gleichen Fluorzusätzen erhaltenen Gesamtzuckerwerte (wenigstens von einem Fluorgehalte von 20 mg ab) bei verschieden langer Digestionszeit annähernd gleich. Bei der löslichen Stärke erfolgt eben im allgemeinen die Maltosebildung langsamer und in geringerem Maße, während Glucose bald und in beträchtlichen Mengen auftritt. Die Zunahme der letzteren bewirkt das konstante Ansteigen der Gesamtzuckerwerte; bei der Haferstärke wird frühzeitig und reichlich Maltose gebildet, die unter der ausgesprochenen Hemmung durch den Fluorzusatz auch bei langer Digestionsdauer nicht mehr zunimmt, während die Glucosebildung keinen großen Umfang erreicht und nur auf Kosten der bereits gebildeten Maltose stattzufinden scheint. Diese Tatsachen sind deshalb von Bedeutung, weil sie zeigen, daß der Fluorzusatz die Stärkearten in ihrem chemischen Verhalten nicht nachweisbar verändert und so eine direkte Beeinflussung des Substrates durch das chemische Agens ausgeschlossen erscheint.

Im übrigen verläuft die Glucosebildung in beiden Versuchsreihen durchaus im gleichen Sinne. Mit zunehmender Hemmung der Maltosebildung wächst der Prozentsatz an Glucose und nimmt bei den höchsten Graden der Hemmung wieder ab, indem sich offenbar ein Gleichgewichtszustand einstellt.

Das hier geschilderte Verhalten scheint nicht nur den Fluorsalzen zuzukommen; ein mit Zusatz von Jodnatrium angestellter Versuch, der im folgenden in abgekürzter Form wiedergegeben sei, spricht dafür, daß der Ablauf der Hemmung diastatische Vorgänge durch Salze im allgemeinen in derselben Weise stattfindet.

Versuch XXIX: Pankreasextrakt G. Versuchsdauer: 110 Stunden. Je 1 g Haferstärke wurde mit 10 ccm Pankreasextrakt und 10 ccm H_2O (in denen enthalten waren: a) 0,0186 g NaJ [entsprechend 4 mg NaF], b) 0,0465 g NaJ [entsprechend 10 mg NaF], c) 0,2325 g NaJ [entsprechend 50 mg NaF]) und 5 ccm Toluol versetzt.

Nach Ablauf der Digestionszeit und nach Entfernung des Jodions wurden Drehung und Reduktion quantitativ bestimmt. Die Abscheidung des Jodions wurde durch Zusatz von 5 ccm $AgNO_3$-Lösung (welche die zur Jodfällung berechnete Ag-Menge enthielt) vorgenommen, der geringe $Ag^{\cdot}$-Überschuß durch Zusatz von 0,2 ccm gesättigter NaCl-Lösung gefällt, dann mit Alkohol auf 200 ccm aufgefüllt und über Nacht stehen gelassen. Die Filtrate erwiesen sich als vollkommen frei von J' und $Ag^{\cdot}$ und wurden wie früher verarbeitet.

Zusatz an NaJ in g	Maltose	Glucose	Gesamtzucker (als Maltose berechnet)	Glucosezunahme in % der Gesamtmaltose	Prozent des gebildeten Gesamtzuckers
a) 0,0186	0,6350	0	0,6350	0	100?
b) 0,0465	0,5925	0	0,5925	0	93,3
c) 0,2325	0,5296	0,0176 (= 0,01672 Maltose)	0,5463	3,06	86,0

Leider war verabsäumt worden, eine Vergleichsprobe ohne NaJ-Zusatz anzusetzen, so daß die unter a) erhaltene Gesamtzuckermenge nicht mit 100%, sondern etwas geringer anzunehmen ist. Es ergibt sich also auch hier das gleiche Bild für den Verlauf der Hemmung bei Haferstärke wie unter Anwendung von NaF, nur scheint der Abfall der Maltosewerte langsamer zu erfolgen.

IV.

Zusammenfassende Betrachtung aller Versuche führt also zur Festlegung folgender Ergebnisse: Der diastatische Abbau der Stärke wird durch Zusatz von NaF gehemmt; die Gesamtmenge der resultierenden Endprodukte nimmt mit steigender Konzentration an NaF ab, nur bei einem Gehalt von 0,005% bis ungefähr 0,03% an NaF erfolgt zuweilen — aber nicht regelmäßig —, eine geringe Förderung des Prozesses. Sieht man von dieser geringen Förderung ab, so erfolgt der Abfall der Maltose- bzw. Gesamtzuckerbildung am raschesten bis zu einem Fluorzusatz von 0,25% und nimmt bei höheren Zusätzen einen asymptotischen Verlauf. Der Prozentanteil der Glucose an der gebildeten Gesamtzuckermenge steigt mit zunehmendem Fluorzusatz und erreicht bei einem Gehalt zwischen 0,25% und 1% NaF ein

relatives Maximum (mit ca. 60—75% des gebildeten Gesamtzuckers). Neben diesen in allen Versuchen deutlich und konstant hervortretenden Ergebnissen erscheinen noch folgende Nebenbefunde bemerkenswert: Bei Zusätzen zwischen 0,5—1,0% NaF bleiben die gebildeten Maltosemengen nahezu konstant; im Intervall der Zusätze von 1,0—2,0% NaF, also den stärksten Graden der Hemmungswirkung, erfolgt unter starkem Absinken der Glucosebildung auffallenderweise eine kleine, aber deutliche Zunahme der Maltosebildung gegenüber den bei 0,5—0,1% NaF-Zusatz gebildeten Mengen.

Die auffallende Inkongruenz zwischen Hemmung des diastatischen Gesamtprozesses und Steigerung der relativen Glucosebildung würde im Rahmen unserer Vorstellungen über die Wirkungsweise der Diastase scheinbar eine zwanglose Erklärung finden können: Das Stärke bis zur Maltose abbauende Ferment wird durch NaF gehemmt, während das Maltose zu Glucose spaltende, die Maltase, durch NaF in seiner Wirkung gefördert wird.

Zur Prüfung dieser Annahme auf ihre Übereinstimmung mit den ermittelten Tatsachen mußte die Beeinflussung der Maltasewirkung durch Fluorzusatz für sich einer Untersuchung unterzogen werden. Dieselbe wurde in der Weise vorgenommen, daß Maltose (und auch α-Methylglykosid, das nach den Beobachtungen von Kalanthar[1]) durch Hefenmaltase reichlich gespalten wird und dessen große spezifische Drehung einen besonders deutlichen Ausschlag bei seiner Spaltung erwarten ließ), der Einwirkung von Pankreasextrakten mit und ohne Fluorzusatz ausgesetzt und der Umfang der Spaltung festgestellt wurde. Da jedoch eine katalytische Beeinflussung der hydrolytischen Fermentspaltung durch NaF nicht völlig ausgeschlossen erschien — nach Beobachtungen von Peters[2]) beschleunigen kleine Mengen von Fluorsalzen die Oxydation von Eisensalzen —, wurden vor Inangriffnahme der Fermentversuche entsprechende Säurespaltungsversuche unter NaF-Zusatz ausgeführt.

Versuch XIII: 1. 20 ccm Maltoselösung (enth. 0,4006 g wasserfreie Maltose) wurden mit 2 ccm konz. HCl + 5 ccm H_2O 45 Minuten am Wasser-

[1]) A. Kalanthar, Zeitschr. f. physiol. Chemie **26**, 88.

[2]) Peters, Zeitschr. f. physikal. Chemie **26**, 193; zit. nach H. Schade, Die Bedeutung der Katalyse für die Medizin. Kiel 1907.

bade bei aufgesetztem Kühlrohr erhitzt, nach dem Erkalten mit NaOH neutralisiert und auf 50 ccm aufgefüllt. Die Flüssigkeit dreht + 1,30°.

2. 20 ccm derselben Maltoselösung + 2 ccm konz. HCl + 5 ccm H_2O (enth. 0,025 g NaF) in gleicher Weise behandelt. Drehung: + 1,30°.

Versuch XIV: 1. 20 ccm Maltoselösung (enth. 0,3862 g wasserfreie Maltose) + 2 ccm konz. HCl + 5 ccm H_2O 2 Stunden am Wasserbade erhitzt, nachher neutralisiert, auf 50 ccm gebracht. Drehung: + 0,82°.

2. 20 ccm derselben Maltoselösung + 2 ccm konz. HCl + 5 ccm H_2O (enth. 0,025 g NaF) in gleicher Weise behandelt. Drehung: + 0,82°.

Versuch XIII zeigt die Drehung bei Unterbrechung des Spaltungsprozesses auf seiner Höhe (völliger Aufspaltung würde ein Absinken der Drehung (von 2,21°) auf 0,83° entsprechen, unter Berücksichtigung, daß nach Herzfeld bei der Säurespaltung aus Maltose nur 98,6% der theoretisch möglichen Menge entstehen), Versuch XIV bei Unterbrechung knapp vor vollendeter Spaltung (völliger Aufspaltung würde ein Absinken der Drehung auf 0,80° entsprechen). In beiden Fällen ergibt also die mit NaF beschickte Probe genau die gleiche Größe der Spaltung wie die Kontrollprobe; demnach findet eine Beeinflussung der Säurespaltung durch Fluorzusatz nicht statt.

Nun wurden Maltoselösungen von genau bekannter Konzentration mit solchen Pankreasextrakten, wie sie in den Stärkeversuchen benutzt wurden; versetzt, nach Zusatz verschiedener NaF-Mengen nebst einer Kontrollprobe ohne Fluorzusatz der Digestion unterworfen und nach gleicher Behandlung wie in den Stärkeversuchen (Alkoholfällung unter Einhaltung derselben Volumsverhältnisse, oder auch nach Fällung mit Bleiacetat — da hier nur die Drehungsunterschiede ohne gleichzeitige Titration zu ermitteln waren) die Größe der Drehung bestimmt. Durch Fluorzusatz beschleunigte Spaltung der Maltose mußte in Abnahme der Drehung gegenüber der fluorfreien Kontrollprobe zum Ausdruck kommen.

Die Eigendrehung des zugesetzten Pankreasextraktes wurde in jedem Versuche durch eine (in die Tabelle nicht aufgenommene) Kontrollprobe ermittelt und erscheint in den mitgeteilten Versuchen bereits berücksichtigt, ebenso die Volumänderung durch den Zusatz von 5 ccm 20 proz. Bleiacetatlösung in jenen Versuchen, in denen nicht die Alkoholfällung zur Anwendung kam.

Die Versuchsresultate folgen in tabellarischer Anwendung.

Versuch XV: 10 ccm Maltoselösung (0,2113 g wasserfr. Maltose) + 15 ccm Pankreasextrakt (C) + 5 ccm H_2O + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer 70 Stunden.

Zusatz	Ohne	4 mg	10 mg	20 mg	40 mg		Alkoholfällung. Ausgangsdrehung der angewandten Maltoselösung = 0,58°
NaF		(0,013%)	(0,03%)	(0,066%)	(0,134%)		
Drehung	0,24°	0,26°	0,24°	0,23°	0,23°		

Versuch XVI: 10 ccm (enth. 0,1956 g Maltose) + 10 ccm Pankreasextrakt (D) + 5 ccm H_2O + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer $21^1/_2$ Stunden.

Zusatz	Ohne	5 mg	10 mg	20 mg	40 mg	50 mg	Alkoholfällung. Ausgangsdrehung der angewandten Maltoselösung = 0,54°
NaF		(0,02%)	(0,04%)	(0,08%)	(0,16%)	(0,2%)	
Drehung	0,38°	0,38°	0,40°	0,35°	0,35°	0,29°	

Versuch XVII: 10 ccm (enth. 0,1956 g Maltose) + 15 ccm Pankreasextrakt (D) + 5 ccm H_2O + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer $21^1/_2$ Stunden.

Zusatz	Ohne	4 mg	10 mg	50 mg			Bleifällung. Drehung d. angewandt. Maltoselsg. (0,1956 g in 30 ccm = 0,6522%) = 1,80°
NaF		(0,013%)	(0,033%)	(0,16%)			
Drehung	1,40°	1,41°	1,41°	1,41°			

Versuch XVIII: 10 ccm (enth. 0,20616 g Maltose) + 15 ccm Pankreasextrakt (D) + 5 ccm H_2O + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer 16 Stunden.

Zusatz	Ohne	5 mg	25 mg	50 mg			Bleifällung. Drehung der angewandten Maltoselösung (0,6872%) = 1,89°
NaF		(0,016%)	(0,08%)	(0,16%)			
Drehung	1,36°	1,35°	1,32°	1,38°			

Versuch XIX: 10 ccm (enth. 0,2010 g Maltose) + 10 ccm Pankreasextrakt (E) + 5 ccm H_2O + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer 17 Stunden.

Zusatz	Ohne	4 mg	8 mg	10 mg	15 mg		Alkoholfällung. Drehung der angewandten Maltoselösung = 0,55°
NaF		(0,016%)	(0,032%)	(0,04%)	(0,06%)		
Drehung	0,43°	0,42°	0,42°	0,43°	0,43°		

Versuch XX: Genau wie XIX. Versuchsdauer 17 Stunden.

Zusatz	Ohne	20 mg	40 mg	50 mg	80 mg	100 mg	
NaF		(0,08%)	(0,16%)	(0,2%)	(0,32%)	(0,4%)	
Drehung	0,43°	0,46°	0,43°	0,40°	0,43°	0,42°	

Versuch XXI: 10 ccm (enth. 0,2010 g Maltose) + 20 ccm Pankreasextrakt (F) + 5 ccm H_2O + 5 ccm Poluol. Versuchsdauer 16 Stunden.

Zusatz	Ohne	10 mg	20 mg	40 mg	50 mg	100 mg	200 mg	Bleifällung. Drehung
NaF		(0,028%)	(0,057%)	(0,115%)	(0,14%)	(0,28%)	(0,56%)	der angewandten
Drehung	1,31°	1,31°	1,31°	1,31°	1,31°	1,31°	1,31°	Maltoselsg. = 1,57°

Versuch XXII: 10 ccm (enth. 0,1904 g Maltose + 10 ccm Pankreasextrakt (H) + 5 ccm H_2O + 5 ccm Toluol.

Zusatz	Ohne	10 mg	50 mg	100 mg	200 mg		Bleifällung. Drehung der angewandten Maltoselösung = 1,20°
NaF		(0,04%)	(0,2%)	(0,4%)	(0,8%)		
Drehung	0,82°	0,82°	0,82°	0,82°	0,82°		

Versuch XXIII: 10 ccm (enth. 0,18128 g Maltose) + 10 ccm Pankreasextrakt (J) + 10 ccm H_2O + 5 ccm Toluol. Versuchdauer 18 Stunden.

Zusatz	Ohne	10 mg	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg	Bleifällung. Drehung der angewandten Maltoselösung = 1,66°
NaF		(0,033%)	(0,16%)	(0,33%)	(0,66%)	(1,32%)	
Drehung	1,11°	1,18°	1,09°	1,17°	1,23°	1,27°	

Versuch XXIV: Ansatz wie in XXIII, Pankreasextrakt auf die Hälfte verdünnt. Versuchsdauer 42 Stunden.

Zusatz	Ohne	10 mg	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
NaF						
Drehung	1,29°	1,26°	1,26°	1,26°	1,33°	1,44°

Versuch XXV: 10 ccm (enth. 0,988 g α-Methylglykosid) + 10 ccm Pankreasextrakt (C) + ccm H_2O + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer 45 Stunden.

Zusatz	Ohne	5 mg	10 mg				Alkoholfällung. Drehung der angewandten α-Methylglykosidlösung = 3,11°
NaF		(0,02%)	(0,04%)				
Drehung	3,10°	3,07°	3,10°				

Versuch XXVI: 5 ccm (enth. 0,1990 g α-Methylglykosid) + 15 ccm Pankreasextrakt (D) + 5 ccm H_2O + 5 ccm Toluol. Versuchsdauer 90 Stunden.

Zusatz	Ohne	10 mg	20 mg				Alkoholfällung. Drehung der angewandten α-Methylglykosidlösung = 0,62°
NaF		(0,04%)	(0,08%)				
Drehung	0,51°	0,50°	0,53°				

Versuch XXVII: 5 ccm (enth. 0,2014 g α-Methylglykosid) + 15 ccm Pankreasextrakt (E) + 5 ccm H_2O. Versuchsdauer 65 Stunden.

Zusatz	Ohne	5 mg	10 mg	15 mg	20 mg	40 mg	Alkoholfällung. Drehung der angewandten α-Methylglykosidlösung = 0,63°
NaF							
Drehung	0,55°	0,59°	0,59°	0,55°	0,59°	0,59°	

Dieselben Ansätze. Versuchsdauer 223 Stunden.

Drehung	0,54°	0,55°	0,55°	0,55°	0,55°	Verunglückt

Die Durchsicht der Maltosespaltungsversuche (XV—XXIV) ergibt nun das leicht erkennbare Resultat, daß unter dem Einfluß der Rinder-Pankreasextrakte in allen Fällen eine deutliche Spaltung der Maltose eingetreten ist, deren Umfang mit der Dauer der Einwirkung, der Menge des zugesetzten Pankreasextraktes und seiner Wirkungsstärke wechselt (Abfall der Drehung in Versuch XV von 0,58° auf 0,24°, in Versuch XVI von 0,54° auf 0,38°, in Versuch XVII von 1,80° auf 1,40° usw.), daß aber unter Fluorzusatz eine konstante Beeinflussung des Spaltungsprozesses im Sinne einer Zunahme keineswegs nachweisbar ist. Eine deutliche Beschleunigung durch Fluorzusatz ergibt nur Versuch XVI, wo bei einem Fluorzusatz von 50 mg ein Drehungsrückgang von 0,38° auf 0,26° erfolgt, während bei den übrigen fluorhaltigen Proben desselben Versuches keine wesentliche Änderung der Drehung eingetreten ist. Dieses einzige positive Ergebnis fällt ganz außerhalb der zahlreichen übrigen Versuchsresultate; kleine Schwankungen der Drehung sind zwar gelegentlich auch da zu erkennen, aber sie halten sich innerhalb geringer, durch die unvermeidlichen Fehler eines Fermentversuches zu erklärenden Grenzen und finden ebensooft im Sinne einer kleinen Hemmung wie in dem einer kleinen Förderung statt (so z. B. im Versuche XVI, in dem bei 70 mg Fluorzusatz die Drehung um 0,02° größer, bei 20 mg und 40 mg Fluorzusatz um 0,03° kleiner ist als in der Kontrollprobe, in den zahlreichen Einzelproben des Versuches XIX und

XX, in dem sich Schwankungen um $\pm 0{,}01°$ bis $\pm 0{,}03°$ bei den verschiedenen Fluorzusätzen zeigen, sicherlich ohne daß auf eine Veränderung der Spaltungsgeschwindigkeit geschlossen werden darf).

Die Versuche mit α-Methylglykosid entsprechen insofern nicht den gehegten Erwartungen, als sich dasselbe durch Pankreasextrakte sehr schwer spaltbar erwies; so zeigt Versuch XXV, da eine merkliche Spaltung nach 45 Stunden noch nicht eingetreten ist, woran der Fluorzusatz nichts änderte, Versuch XXVI und XXVII, daß selbst nach langer Digestionszeit (90 und 225 Stunden) das Ausmaß der Spaltung gering ist (Drehungsabfall in Versuch XXVI von 0,62° auf 0,51°, in Versuch XXVII von 0,63° auf 0,55°). Diese geringe Spaltbarkeit des α-Methylglykosids durch Pankreasextrakt steht auf der einen Seite in guter Übereinstimmung mit seinem Verhalten im Tierkörper; denn wie der eine[1]) von uns nachgewiesen hat, werden von eingeführtem α-Methylglykosid bis zu 60% unverändert ausgeschieden. Anderseits liefert das gegensätzliche Verhalten des α-Methylglykosids gegenüber der Einwirkung von Hefemaltasen, welche nach E. Fischer und A. Kalanthar α-Glykoside leicht hydrolysieren, ein schlagendes Beispiel von der Verschiedenheit tierischer und pflanzlicher Maltasen. Jedenfalls erhellt aber aus allen 3 Versuchen einwandfrei, daß Fluorzusatz eine Beschleunigung der Spaltung nicht bewirkt, ja in Versuch XXVII ist eher die Andeutung einer geringen Hemmung zu finden.

Es zeigt sich also bei Zusammenfassung der beiden großen Versuchsgruppen (Stärkeversuche einerseits, Maltoseversuche anderseits) ganz gleichmäßig die Erscheinung, daß dieselbe Menge von NaF, welche Fermentextrakten aus Rinderpankreas zugesetzt, die Stärkeverzuckerung deutlich und ganz regelmäßig im Sinne einer relativen (oft auch einer absoluten) Glucosezunahme beeinflußt, auf die Spaltung von Maltose (und α-Methylglykosid) durch diese Pankreasextrakte gar nicht oder nur ganz ausnahmsweise im Sinne einer Förderung einwirken. Es muß daher als unwahrscheinlich gelten, daß der Vorgang der (relativen) Glucosezunahme auf einen die Maltasewirkung fördernden Einfuß der Fluorsalze zurückzuführen sei.

[1]) S. Lang, Zeitschr. f. klin. Med. **55**. (Festschrift für Naunyn.)

Für eine ausreichende experimentell begründete Erklärung dieser Erscheinungen bieten unsere Versuche zunächst keinen Anhaltspunkt[1]). So verlockend es wäre, die Resultate im Sinne der einen oder anderen Fermenttheorie zu deuten, müssen wir von einem solchen Beginnen schon deshalb abstehen, weil unsere Versuche nicht mit reinen Fermenten, sondern mit Organextrakten angestellt sind, durch deren komplexe Zusammensetzung im Verein mit der durch die Digestion erfolgenden autolytischen Veränderung kompliziertere Wirkungsbedingungen geschaffen sind. Daß im allgemeinen Veränderungen der kolloidalen Verteilung, verwickelte Adsorptionsvorgänge (wie sie von Wohl, Wohl und Glimm, van Laer u. a. in Erwägung gezogen wurden) eine große Rolle spielen, liegt durchaus im Bereiche der Möglichkeit. Ein einzelner in dieser Richtung von uns ausgeführter Versuch ließ keine wesentliche Abweichung von den bisher mitgeteilten Versuchsergebnissen erkennen.

Versuch XXVIII: 60 ccm Pankreasextrakt (F) wurden mit 2 g Tierkohle längere Zeit geschüttelt; dann wurden mit diesem kohlehaltigen Extrakte folgende 2 Versuche angesetzt:

1. 2 g lösliche Stärke + 15 ccm PE. + 5 ccm H_2O + 5 ccm Toluol.

2. 2 g lösliche Stärke + 15 ccm PE. + 5 ccm H_2O (enth. 20 mg NaF) + 5 ccm Toluol. Nach 72stündiger Digestion wurden die Flüssigkeiten, wie früher angegeben, verarbeitet und Polarisation (unter Berücksichtigung der in einer Kontrollprobe bestimmten Eigendrehung des Extraktes) sowie Reduktion bestimmt.

Zusatz an NaF in mg	Maltose	Glucose	Gesamtzucker (Glucose als Maltose berechnet)	Zunahme an Glucose in %	Prozente des gebild. Gesamtzuckers
ohne	0,2212	0,123	0,3381	34	100
20	0,1678	0,1109	0,2730	38	81

[1]) Daß etwa eine kalkfällende Wirkung der Fluorsalze in unseren Versuchen eine wesentliche Rolle spielt, ist bei dem geringen Kalkgehalt unserer Fermentlösungen ganz unwahrscheinlich; wir fanden z. B. in 50 ccm Pankreasextrakt (J) 0,0025 g Ca, in der verwendeten Menge von 10 ccm also 0,0005 g; diese würden durch ungefähr 1 mg NaF gefällt. Selbst wenn man mit einem um das Vielfache dieser Menge wechselnden Ca-Gehalte der Pankreasextrakte rechnet, würden zur Fällung 2 bis 5 mg NaF ausreichen. Gerade bei diesen Zusatzmengen tritt entweder keine oder häufiger eine Veränderung im Sinne einer geringen Wirkungssteigerung ein, während nach den bisher vorliegenden Erfahrungen Calciumentziehung zur Hemmung oder Aufhebung fermentativer Tätigkeit führt.

Es findet also auch bei Gegenwart von Tierkohle unter Fluorzusatz die Abnahme der Maltosebildung und die relative Zunahme der Glucosebildung annähernd in demselben Ausmaße statt wie in den Versuchen ohne Tierkohlezusatz; besonders deutlich geht dies aus einem Vergleiche mit Versuch VI hervor, wo derselbe Ansatz mit dem gleichen Pankreasextrakt (bei kürzerer Digestionsdauer) zur Verwendung kam; nur scheint durch den Tierkohlezusatz (bei längerer Digestionsdauer) die Geschwindigkeit des Abbaues etwas verzögert.

Versuche, eine Aufklärung dieser bei dem Hemmungsvorgange beobachteten Erscheinungen von einer anderen Seite her, dem Studium der Förderung des diastatischen Gesamtprozesses durch Chloride, in Angriff zu nehmen, konnten leider aus äußeren Gründen nicht zu Ende geführt werden; eine vorläufige Orientierung führte zu dem Ergebnis, daß auch hier komplizierte Verhältnisse vorliegen, die nicht ohne weiteres mit dem Hemmungsvorgang verglichen werden können.

Überblickt man nun im Zusammenhange die auffallendsten Versuchsergebnisse:

a) die konstante Abnahme der Maltosebildung bei steigendem Fluorzusatz,

b) das Ansteigen der Glucosebildung (relativ, meist auch absolut gegenüber der fluorfreien Kontrollprobe) ganz parallel mit dem Sinken der Maltosebildung,

c) die merkwürdige Zunahme der unter starker Hemmungswirkung größter Fluordosen gebildeten Maltosemengen unter gleichzeitig plötzlichem und unverhältnismäßig starkem Absinken der Glucosebildung, eine Zunahme, die wahrscheinlich nicht auf Reversion zurückgeführt werden kann,

d) das indifferente Verhalten der Pankreasextrakte gegenüber Fluorzusätzen in bezug auf die Maltosespaltung im Gegensatze zu dem Verhalten bei ihrer diastatischen Gesamtwirkung auf Stärke,

e) schließlich auch das gegensätzliche Verhalten der Hemmungswirkung von Fluorzusätzen auf die Maltasetätigkeit, je nachdem sie für sich allein (keine regelmäßig ausgesprochene Hemmung bei Einwirkung auf Maltose) oder in Kombination mit der Amylase (regelmäßige Hemmung der Glucosebildung durch große Fluordosen bei Einwirkung auf Stärke) zur Wirkung gelangt,

so ist die Vermutung naheliegend[1]), daß für die Gesamtwirkung der Diastase eine gewisse gegenseitige Verknüpfung der Amylase- (Dextrinase-) und Maltasetätigkeit besteht, eine Verknüpfung, die ungeachtet der nicht zu bezweifelnden Spezifität der einzelnen Fermente doch so enge ist, daß innerhalb gewisser Grenzen durch die Hemmung des einen Fermentes eine — wenn auch quantitativ nicht gleichgroße — Wirkungsbegünstigung für das andere Ferment geschaffen wird. In einem solchen Vorgange könnte man eine Regulationsvorrichtung des Organismus erblicken, welche die Aufgabe hätte, die so wichtige diastatische Funktion wenigstens in einem gewissen Umfange zu sichern unter Bedingungen, die zu einer Abschwächung oder Hemmung dieser Fermenttätigkeit führen würden. Zur festen Begründung dieser Vermutung, die allerdings eine einheitliche Auffassung der hier mitgeteilten Beobachtungen gestattet, sind unsere Versuchsergebnisse nicht ausreichend. Jedenfalls ist aber durch dieselben der Verlauf der Hemmungswirkung durch Fluorsalze, der qualitativ für andere hemmende Salze in derselben Weise erfolgen dürfte, festgestellt und auf bedeutungsvolle Beziehungen der Fermente untereinander hingewiesen, deren weitere Verfolgung einige Aufklärung über den Mechanismus der Fermentwirkung erwarten läßt.

[1]) Es ist vielleicht nicht überflüssig, noch folgende Möglichkeit zu diskutieren: Die unter Fluorzusatz verringerten Maltosemengen könnten von der durch Fluorzusätze unbeeinflußten Maltase in größerem Ausmaße gespalten werden, so daß aus fallend kleineren Mengen von Maltose ein steigender Prozentanteil von Glucose hervorgehen könnte, wenigstens innerhalb einer gewissen Breite der Fluorzusätze. Diese Annahme würde aber — ganz abgesehen von Widersprüchen, die sich bei genauer Betrachtung aus den Versuchen selbst ergeben — voraussetzen, daß die Gesamtmenge der beim diastatischen Prozesse gebildeten Kohlenhydrate ein Maltose-Stadium durchlaufen hat, eine Voraussetzung, die nach unseren heutigen Vorstellungen über den Abbau der Stärke nicht zutreffend ist.

Studien zur Methodik der refraktometrischen Serumuntersuchung auf Abwehrfermente (Mikro-Abderhalden-Reaktion).

Von

Hans Meyer.

(Aus der chemischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses am Urban zu Berlin und der III. medizinischen Klinik der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 2. Dezember 1920.)

Die Beachtung und Anerkennung, welche die Lehre von den Abwehrfermenten alsbald nach ihrer Veröffentlichung fand, kam nicht zuletzt in der großen Fülle von Arbeiten zum Ausdruck, die sich mit ihr, so neuartig sie auch war, beschäftigten. Leider haben aber die Schwierigkeiten und erheblichen Fehlerquellen der verfügbaren Untersuchungsmethoden, besonders der meist angewandten Dialysiermethode, die Klärung der biologischen Tatsachen arg behindert, und sie haben sich auch durch stets neue Verfeinerungen und Verbesserungen durch Abderhalden selbst nicht so weit beheben lassen, daß von einer in jedes Hand zuverlässigen Methodik auch nur annähernd die Rede sein könnte. Hieraus ergibt sich die außerordentliche Wichtigkeit jedes neuen Versuches, eine neue, einwandfreie Basis zur Forschung nach den Abwehrfermenten zu gewinnen. Pregl hat sich nicht mit Verbesserungen der vorhandenen Methoden begnügt, sondern seinen Untersuchungen „Über den Nachweis von Abwehrfermenten in kleinsten Serummengen (Mikro-Abderhalden-Reaktion)" zusammen mit de Crinis[1]) den Gesichtspunkt der Serumkonzentrationsänderung infolge von Organabbau zugrunde gelegt. Die relativ geringe Zahl der hierbei mitsprechenden, anscheinend gut zu überschauenden Faktoren und das im Refraktometer nach Pulfrich zur Verfügung stehende gute Instrumentarium ließen eine

[1]) Fermentforschung Jg. 2, Nr. 1.

Mindestzahl von Fehlerquellen erhoffen. Und tatsächlich bringen bereits die genannte erste Veröffentlichung sowie eine weitere Arbeit „Über den serologischen Carcinomnachweis" von de Crinis und Mahnert[1]) Resultate, die in hohem Grade für den Wert dieser von Pregl „Mikro-Abderhalden-Reaktion" genannten Methodik sprechen.

Die Originalvorschrift von Pregl und de Crinis lautet[2]): „Wir geben in ein kleines Gläschen mit einem Durchmesser von 4—6 mm und einer Länge von 30—40 mm (sehr gut eignen sich dazu die leer gewordenen Stoffbehälter mit sehr gut passenden Gummistopfen, in denen 0,1 g Ninhydrin in Handel gebracht wird) nach dem Augenmaß mit der Messerspitze eine kleine Menge, etwa 0,01 g des betreffenden Trockenorgans, füllen das Gläschen mit kochender 0,86proz. Chlornatriumlösung an und lassen es dann etwa eine Stunde stehen. Durch die kochende Kochsalzlösung werden auch Keime getötet, die den Versuch stören könnten. Ein späterer Zusatz von Thymol, welches im Serum praktisch unlöslich ist, stört die optische Bestimmung nicht, sobald man es nicht in gepulvertem Zustande, sondern in Form eines Kryställchens anwendet. Die über dem nun vollständig gequollenen Organprotein stehende Kochsalzlösung wird mit einer feinen Pipette und schließlich mit einer Glascapillare möglichst vollständig abgesaugt. Nun läßt man 3—4 Tropfen (!) Serum aus einer frisch gezogenen Capillare in das Gläschen einfließen, verschließt es luftdicht mit einem Gummistöpsel und schwenkt gut um, damit sich die allenthalben noch anhaftenden geringen Reste der Kochsalzlösung mit dem zugesetzten Serum innig mengen. Nach 5—10 Minuten zentrifugiert man und entnimmt daraus mit einer neuen Glascapillare ein Tröpfchen, bringt es auf das Hilfsprisma und bestimmt seinen Brechungsindex. Nach 24stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur — die Anwendung des Brutschrankes ist durchaus nicht erforderlich — erfolgt die zweite Bestimmung wieder nach Anwendung der Handzentrifuge, um dem Gläschen einen klaren Tropfen leicht entnehmen zu können."

Mit folgendem wurde der Versuch gemacht, auf breiterer Grundlage die Verläßlichkeit und Ausschlagsbreite dieser Methodik kennenzulernen. Es ist zwar selbstverständlich, mag aber besonders betont werden, daß hierbei zunächst alle klinisch-diagnostischen Gesichtspunkte völlig ausschalteten. — Wie aus ihrer Arbeit ersichtlich, haben Pregl und de Crinis mannigfache Abänderungen der Versuchsanordnung vornehmen müssen, ehe sie zu ihrer definitiven, sie befriedigenden Arbeitsmethode kamen; diese oben zitierte Originalvorschrift wurde den vorliegenden Ver-

[1]) Fermentforschung Jg. 2, Nr. 2.
[2]) Fermentforschung Jg. 2, Nr. 1.

suchen zugrunde gelegt. Abweichungen nicht prinzipieller Natur ergaben sich nur in folgendem:

Als Versuchsgläschen wurden nicht die leeren Ninhydringläschen benutzt, welche wegen ihrer braunen Farbe die Beobachtung etwas erschweren, sondern solche aus Jenenser Glas von 7 mm Durchmesser und 46 mm Höhe mit luftdicht aufgepaßten Gummistopfen. Als Menge des bei jedem Versuche verwandten Trockenorgans wurde jedesmal 0,01 g abgewogen, nicht bis auf mg und $^1/_{10}$ mg, aber um doch strenger als nach dem Augenmaß allein im Rahmen der stets gleichen Größenordnung zu bleiben. Die Trockenorgane selbst wurden nach der von Pregl in seiner Arbeit „Beiträge zur Methodik des Dialysierverfahrens von Abderhalden“[1]) gegebenen Vorschrift hergestellt, mit Ninhydrin wiederholt geprüft und haben sich als außerordentlich haltbar erwiesen. Nach ihrer Aufquellung durch NaCl-Lösung wurde diese nicht nur mit Capillarpipetten aufgesaugt — bei sorgfältiger Reinigung und Sterilisation ließen sich die Capillaren mehrfach verwenden —, sondern durch Zusatz von etwa 2 Tropfen des zu untersuchenden Serums und erneute sofortige Absaugung wurde die überschüssige NaCl-Lösung möglichst ganz von dem Organ fortgewaschen, ehe der endgültige Serumzusatz erfolgte.

Hierfür erwies sich nun eine Beschränkung auf nur 3—4 Tropfen Serum, wie sie Pregl angibt, als untunlich. Bei Verwendung der angegebenen Organmenge, die doch ein feines Pulver darstellt, gelang es nämlich nur mit Mühe und durchaus nicht regelmäßig, von nur 3—4 Tropfen genug Serum für zwei Bestimmungen selbst mit feinster Capillare abzusaugen, denn der Versuch, mit Bruchteilen eines Tropfens für jede Bestimmung auszukommen, stellte die Deutlichkeit der Ablesung zuweilen außerordentlich in Frage. Selbst das kleine, von Zeiss gelieferte Hilfsprisma bedarf für jede Ablesung im Durchschnitt etwa 2—3 Tropfen, muß man doch auch den ganz unvermeidlichen Verlust kleiner Serummengen in Rechnung stellen, die in der Capillare haften bleiben, durch Luftblasenbildung darin verlorengehen usw. Deshalb wurden bei jedem Versuch dem gequollenen Organ nach Entfernung der NaCl-Lösung zunächst etwa 8—10 Tropfen des Serums zugesetzt, hiervon allerdings alsbald wieder zwecks Ausführung der ersten Bestimmung 4—5 Tropfen entnommen. Auf diese Weise ergaben sich fast nie mehr Schwierigkeiten, genug Serum für die zweite Bestimmung zu erhalten.

Diese Frage der zu verwendenden Serummenge kann übrigens ebenso wie die der jedesmaligen Organmenge bei weiterem Ausbau der Methode zu erheblicher Bedeutung gelangen. Erfahren nämlich auftretende Abbauprodukte eine verschieden große Verdünnung je nach der Menge des das Organ umgebenden Serums, so muß sich dieser Unterschied unbedingt in der Größe des Ausschlags der Konzentrationsänderung geltend machen. Ja, selbst der Durchmesser der verwandten Versuchsgläschen könnte sogar eine Rolle spielen, da von ihm die Größe der Fläche abhängt, in der das Serum auf das Organ einwirken kann. — Von der Verwendung des Brut-

[1]) Fermentforschung Jg. 1, Nr. 1.

schrankes wurde entsprechend der von Pregl gegebenen ersten Vorschrift abgesehen; de Crinis und Mahnert scheinen ihn allerdings benutzt zu haben, ob regelmäßig, ist aus ihrer Arbeit nicht mit Sicherheit zu entnehmen. Auch hierüber wäre eine Klärung im Interesse der Methode, die doch die quantitative Beurteilung der auftretenden Differenzen der Brechungsindices verlangt, notwendig. Versuche hierüber werden angestellt.

Die Temperierung der zu untersuchenden Flüssigkeit und des Instrumentes ist bei dem Eintauchrefraktometer nach Pulfrich ein hochwichtiger Faktor; es ist nicht zuviel gesagt, daß ihr die Hauptmühe bei den ganzen Versuchen zu gelten hatte, denn bei den heutigen Gas- und Heizungsverhältnissen erwies sich die Aufrechterhaltung einer konstanten Temperatur von bestimmter Höhe 17,5° selbst mit Hilfe des dem Apparat beigegebenen verstellbaren Temperierbades als unmöglich. Hiervon absehend wurde deshalb in erster Linie Wert darauf gelegt, daß die Temperierung von Ablesung 1 und 2 bei einem jeden Versuch übereinstimmte; zum Glück spielen ja Abweichungen von einigen Hundertsteln, selbst einem Zehntel Wärmegrad keine Rolle, da sie im Brechungsindex kaum merklich zum Ausdruck kommen. — Die Temperierungszeit war 10 Minuten, dann wurden hintereinander mehrere, meist 6 Ablesungen gemacht, von diesen, wenn sie gut übereinstimmten, der Durchschnitt genommen. Durch Festsetzung dieses Durchschnittes als Ablesung 1 sollte subjektiven Ungenauigkeiten der Einzelablesung tunlichst vorgebeugt werden. Ganz entsprechend wurde bei der Ablesung 2 nach etwa 20—24 Stunden verfahren. Der Verlauf der ganzen Versuche bringt es ja mit sich, daß das genaue Zeitintervall von 24 Stunden zwischen Ablesung 1 und 2 kaum eingehalten werden kann.

Eine ganz außerordentliche Verbesserung der Ablesungsgenauigkeit ist durch Anbringung einer auf Veranlassung von Professor Rona durch Zeiss für das Refraktometer hergestellten Okularblende mit horizontalem, verstellbarem Schlitz erreicht. Sie scheint von der Firma jetzt allen Instrumenten beigefügt zu werden.

Eine Reihe von Vorversuchen belehrte sogleich, daß für die Methode als oberstes Gesetz völlig einwandsfrei steriles Arbeiten zu gelten hat sowohl bei der Blutentnahme und der Serumgewinnung als bei der weiteren Versuchsanordnung. Das geringste Versehen führt hier offenbar zu einer groben Verfälschung des Resultates, denn es ist tatsächlich mehrfach vorgekommen, daß bei einer gleichzeitig angestellten Versuchsreihe mehrere Gläschen, die aus äußeren Gründen zufällig nicht sorgfältig sterilisiert waren und als solche markiert wurden, ganz aus dem übrigen Rahmen fallende Resultate aufwiesen. Ihre sterilisierende Rolle für das ja nicht steril aufgehobene Trockenorgan scheint die kochend zugesetzte NaCl-Lösung durchaus ausreichend zu spielen. Außerdem empfiehlt aber Pregl noch den Zusatz eines kleinen Kryställchens Thymol, das praktisch unlöslich sei. Wieder und wieder

zeigten sich jedoch nach 24 Stunden um das Kryställchen mehr oder minder dichte, wohl durch Eiweißniederschläge bedingte Trübungen, die natürlich mit deutlicher Änderung des Brechungsindex einhergingen. Dies führte gleich anfangs zu Versuchen über die Entbehrlichkeit des Thymols. Zu diesem Zweck wurde Serum allein sowie Serum, das auf Milztrockenorgan einwirkte, mit und ohne Thymolzusatz untersucht.

Tabelle I.

Patient	Serum allein n_D 1,3		Differenz	Serum + Thymol n_D 1,3		Differenz	Klinische Diagnose	Bemerkungen
		nach ca. 24 Std.			nach ca. 24 Std.			
♂ V	4823	4820	−3	4826	4828	+ 2	Mitralinsuffizienz. Tabes incip.	
♀ IV	5126	5125	−1	5129	5161	+32	Ulcus cruris	Thymolniederschlag
♂ VI	5020	5020	0	5017	5035	+18	Angina	
♂ VII	5044	5038	−6	5030	5030	0	Tabes dors.	
♀ VIII	5095	5102	+7	5110	5112	+ 2	Condylomata lata	-
♀ IX	4861	4862	+1	4864	4864	0	Lebercirrhose (?)	

Tabelle II.

Patient	Serum + Milz n_D 1,3		Differenz	Serum + Thymol + Milz n_D 1,3		Differenz	Klinische Diagnose	Bemerkungen
		nach ca. 24 Std.			nach ca. 24 Std.			
♂ V	4772	4761	-11	4792	4792	0	Mitralinsuffiziens. Tabes incip.	
♀ IV	5056	5073	+17	5067	5098	+31	Ulcus cruris	Thymolniederschlag
♂ VI	4977	4969	- 8	4973	4973	0	Angina	
♂ VII	5012	5008	- 4	5008	5017	+ 9	Tabes dors.	
♀ VIII	5075	5026	−49	5030	5034	+ 4	Condylomata lata	-
♀ IX	4809	4809	0	4803	4815	+12	Lebercirrhose (?)	

Ein deutlicher Unterschied zugunsten der mit Thymol angestellten Versuche war keineswegs ersichtlich, und so wurde im Vertrauen auf die gewissenhafte Asepsis diese mögliche Fehlerquelle in allen Versuchen ausgeschaltet und jeder desinfizierende Zusatz fortgelassen.

Eine Prüfung von Seren, die unter Innehaltung der gewohnten Versuchsanordnung zwecks Fahndung auf bakterielle Zersetzung ohne Desinfiziens sogar 3 bzw. 4 mal 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufgehoben wurden, ergab folgendes Resultat:

Tabelle III.

Patient	Serum allein n_D 1,3		Differenz	Klinische Diagnose (Bemerkungen)
		nach zirka 4 × 24 Std.		
♂ XXIV	5036	5043	+7	Tumor cerebri
♀ XXV	5161	5162	+1	Apoplexie
♂ V	4823	4817	−6	Mitralinsuffizienz. Tabes incip. (Ablesung 2 schon nach 3 × 24 Std.)

Um mit der Leistungsfähigkeit der Methode als solcher vertraut zu werden, schien es für die eigentlichen Versuche wünschenswert, eine Anordnung zu wählen, die vor allem eine Art gegenseitiger Kontrolle der Einzelversuche ausübt und wenigstens bis zu einem gewissen Grade gewährleistet, daß der Versuch einwandfrei angestellt und verlaufen ist. Wie weitgehende Vorsichtsmaßregeln biologische Versuche nach dieser Richtung hin verlangen, zeigt ja am besten die Wa.R., bei der doch nach peinlichen quantitativen Vorversuchen jedes Ergebnis im Hauptversuch an mehreren Extrakten und durch Kontrollserum geprüft wird.

Da bei vorliegenden Versuchen, wie gesagt, klinische Gesichtspunkte ganz fortfielen und der Hauptwert auf Gewinnung eines Überblicks über die Leistungsfähigkeit der Methode gelegt wurde, wurde im Interesse tunlichst zweckmäßiger Ausnutzung des verfügbaren Materials von dieser Art regelmäßiger Kontrollen etwa durch Doppelversuche noch abgesehen. Es erschien aber wünschenswert, erstens jedes Serum gleichzeitig auf eine Reihe von verschiedenen Trockenorganen einwirken zu lassen, und zweitens bei einer solchen Versuchsreihe stets das betreffende Serum für sich ohne Organzusatz zu beobachten. Indem so jedes Serum meist in 4—5 Proben untersucht wurde, schien die tastende Unsicherheit, die einem Einzelversuch doch anhaftet, wenigstens bis zu einem gewissen Grade vermieden; das Vergleichen der Einzelresultate erlaubte einigermaßen eine Orientierung über die Eindeutigkeit und Zuverlässigkeit der ganzen Versuchsreihe, und etwa auftretende grobe Ausschläge im Serumversuch ohne Organ ließ eine Kontrolle der Sterilität des Serums erhoffen, sei es, daß die Gewinnung nicht einwandfrei gewesen, sei es, daß bei den betreffenden Patienten mit einer Bakteriämie zu rechnen war. Hier zeigte sich eben der große

Vorteil der „Mikromethode", denn trotzdem, wie oben ausgeführt, etwa die doppelte Serummenge Pregls bei jedem Versuche verbraucht wurde, lieferten doch etwa 10 ccm Blut meist reichlich Serum für jede Versuchsreihe. Hier sei vermerkt, daß mäßiger Grad von Hämolyse die Verwendbarkeit des Serums nicht beeinträchtigt zu haben scheint.

Als Trockenorgane kamen zunächst Lunge, Milz und Hoden zur Anwendung. Jedes war von mehreren Leichen entnommenem Material hergestellt, das bereits bei der Verarbeitung gemischt wurde. Stets wurde das zum Versuch erforderliche Zentigramm aus dem gleichen Vorrat entnommen, um so allmählich auch ein Bild von der Brauchbarkeit der betreffenden Organsubstanz zu gewinnen, ob eine etwa gehäufte unerwartete Ausschläge gebe. Abderhalden weist ja jetzt in seinen „Abwehrfermenten" mit Nachdruck auf die Ungleichwertigkeit der verschiedenen gleichartigen benutzten Organe hin, deren Ursache möglicherweise in der Art der Gewinnung, Reinigung von Bindesubstanz oder anderen Beimengungen und der Verarbeitung liegt. So prüft Abderhalden die Organe, stellt sie ein, löst sie bei Versiegen eines Vorrates voneinander ab.

In einer ersten Gruppe von Versuchen wurde neben dem Serum nur noch Serum + Milz untersucht:

Tabelle IV.

Patient	Serum allein n_D 1,3		Differenz	Serum + Milz n_D 1,3		Differenz	Klinische Diagnose	Bemerkungen
		nach ca. 24 Std.			nach ca. 24 Std.			
♂ V	4823	4820	− 3	4772	4761	− 11	Mitralinsuffizienz. Tabes incip.	
♀ IV	5126	5125	− 1	5056	5073	+17	Ulcus cruris	
♂ VI	5020	5020	0	4977	4969	− 8	Angina	
♂ VII	5044	5038	− 6	5012	5008	− 4	Tabes dors.	
♀ VIII	5095	5102	+ 7	5075	5026	−49	Condylomata lata	
♀ IX	4861	4862	+ 1	4809	4809	0	Lebercirrhose (?)	
♀ X	4724	4728	+ 4	4693	4691	− 2	Sepsis p. abortum	
♀ XI	4740	4750	+10	4698	4700	+ 2	Empyem	Serum etwas rötlich
♀ XII	5091	5094	+ 3	5071	5069	− 2	Lues II	
♂ XIII	4730	4731	+ 1	4700	4707	+ 7	Lues III, Aortitis (?)	

Bei weiteren Versuchen wurde dann je eine Versuchsreihe gebildet, die aus erstens Serum allein, zweitens Serum + Hoden, drittens Serum + Lunge, viertens Serum + Milz bestand:

Tabelle V.

Patient	Serum allein n_D 1,3		Differenz	Serum + Hoden n_D 1,3		Differenz	Serum + Lunge n_D 1,3		Differenz	Serum + Milz n_D 1,3		Differenz	Klinische Diagnose	Bemerkungen
		nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			
♀ XIV	4969	4964	−5	4916	4892	−24	4930	4907	−23	4921	4917	−4	Apicitis, alte Exstirpatio uteri	Serum etwas rötlich
♀ XV	4734	4739	+5	4683	4682	−1	4698	4699	+1	4698	4694	−4	Pneumonie	
♂ XVII	5006	5016	+10	4941	4951	+10	4939	4933	−6	4937	4954	+17	Aorteninsufficienz	
♀ XVIII	4747	4737	−10	4672	4671	−1	4692	4682	−10	4664	4666	+2	Aortitis	
♂ XXI	4843	4832	−11	4783	4764	−19	4780	4786	+6	4781	4781	0	Typhus abd.	" " "
♀ XXII	5102	5107	+5	5040	5040	0	5001	5021	+20	5018	5010	−8	Bronchitis	" " "
♀ XXIII	5072	5080	+8	4961	4962	+1	4984	4982	−2	4974	4980	+6	Scabies	
♀ XXVI	4770	4770	0	4740	4738	−2	4679	4687	+8	4717	4713	−4	Ulcus cruris	
♀ XXV	5181	5183	+2	5136	5136	0	5069	5069	0	5092	5092	0	Apoplexie	
♀ XXVII	4929	4932	+3	4817	4817	0	4836	4840	+4	4891	4899	+8	Ozaena	" " "
♂ XXVIII	4791	4792	+2	4687	4701	+14	4691	4699	+8	4709	4705	−4	Tabes incip.	
♀ XXIX	5100	5099	−1	4977	4964	−13	4995	4995	0	5047	5047	0	Aorteninsufficienz	
♂ XXX	5065	5065	0	4954	4947	−7	4825	4825	0	4963	4961	−2	Lues cerebri	Hoden bei d. 1. Ablesung etwas unscharf

Von ganz besonderem Interesse schien es, pathologische Organsubstrate, wie Carcinom, in den Kreis der Untersuchungen mit einzubeziehen, da doch zu erwarten ist, daß ihnen gegenüber sich die Lehre von den Abwehrfermenten als eine Theorie von ganz besonderem Wert erweisen kann. Die angeführte Arbeit von de Crinis und Mahnert galt ja auch Carcinomuntersuchungen mit der Mikro-Abderhalden-Methode. Die Auswahl und Gewinnung der hierzu zu verwendenden Trockenorgane war nicht leicht, besonders da die wichtigen, von Abderhalden in den „Studien über das Verhalten verschiedener Blutsera gegenüber verschiedenen Organsubstraten“[1]) niedergelegten Erfahrungen berücksichtigt werden sollten. Hier hatte sich nämlich bei Dialyseuntersuchungen von etwa 200 Carcinomseren, die gegen verschiedene Carcinomsubstrate geprüft wurden, mit absoluter Deutlichkeit sehr häufig nur dann eine positive Reaktion ergeben, wenn zwischen Serum und Organ eine streng spezifische Einstellung bestand; d. h. Serum eines Patienten mit Cylinderepithelkrebs wirkte auf von Cylinderepithelkrebs stammendes Organ ein, nicht aber auf etwa von Scirrhus stammendes usw. So kam denn Abderhalden zu dem wichtigen, auch fast erwartungsgemäßen Ergebnis: „Plattenepithelkrebs, Scirrhus und Cylinderepithelkrebs sind nach den vorliegenden Untersuchungen zweifellos biologisch verschieden.“ Dieser Erfahrung, die sich im strikten Gegensatz befindet zu dem auch bei Abwehrfermentenforschung meist fortgeführten Brauch, den so unendlich Verschiedenes zusammenfassenden Begriff Carcinom nicht weiter zu differenzieren, sollte nun Rechnung getragen werden. Neben einem Carcinomtrockenorgan, das von einer Reihe ganz verschiedener Carcinomtumoren herrührte, die meist dem Genitale und der Leber entstammten — hier fanden sich noch am häufigsten größere Knoten, die hinreichende Isolierung und Säuberung erlaubten und die Verarbeitung verlohnten — wurde deshalb noch ein gewissermaßen reines, einem einzigen Fall mit riesigen Lebertumoren entnommenes Trockenorgan hergestellt. Es handelte sich um ein primär von der Gallenblase ausgehendes Carcinom; die mikroskopische Untersuchung ergab: medulläres Gallenblasencarcinom mit ausgedehnten Nekrosen und Lymphocyteninfiltrationen.

[1]) Fermentforschung Jg. 1, Nr. 4.

Von den somit für die Untersuchungen zur Verfügung stehenden beiden Carcinomsubstraten ist in folgendem das gemischte als Ca I, das reine von dem Lebertumor als Ca II bezeichnet.

Für die Versuche wurde von jedem Serum eine Reihe angesetzt, bestehend aus erstens Serum allein, zweitens Serum + Ca I, drittens Serum + Ca II, viertens Serum + Hoden, fünftens Serum + Lunge. Als Serumspender wurden zunächst Patienten gewählt, die mit absoluter Sicherheit kein Carcinom oder einen anderen Tumor hatten, nicht fieberten, und deren Leiden, dessentwegen sie sich in klinischer Behandlung befanden, entweder nahezu geheilt war oder sich in einem stationären Zustand befand (Tabelle VI).

Schließlich gelangte das Serum von Patienten zur Untersuchung, die an einem sicheren, meist auch mikroskopisch näher definierten Carcinom litten (Tabelle VII).

Tabelle VIII enthält zwei in gleicher Weise untersuchte Sarkomfälle.

Ein Überblick über die in Tabelle I bis II niedergelegten Vorversuche lehrte bereits zweierlei: bei genauer Befolgung der von Pregl und de Crinis angegebenen Originalmethode, gleichgültig, ob mit oder ohne Thymolzusatz gearbeitet wurde, wurde unter sorgfältigster Ausschaltung aller subjektiven Korrekturen und Irrtümer bei der Ablesung im Refraktometer nur in einer Minderzahl von Fällen absolutes Gleichbleiben des Serumbrechungsindex innerhalb der 24stündigen Beobachtungszeit festgestellt. Dieser Befund wurde insbesondere auch in den stets mitgeführten reinen Serumkontrollen erhoben und hat sich bei der Fortführung der Versuche stets wieder gezeigt. Und ferner wies die Differenz der Indices, welche doch die Änderung der Serumkonzentration angibt, durchaus nicht immer einen positiven Wert auf, sondern oft genug einen negativen im Sinne einer Konzentrationsverminderung.

Bei der ganzen Anlage der Arbeit, die ja nur methodischen Charakter haben soll, erschien gerade die Beobachtung dieser Ausschläge von eminenter Bedeutung, die bei einer Versuchsanordnung auftreten, welche noch in keiner Weise von einer Fehlerquellen in sich bergenden klinischen oder pathologisch-anatomischen Fragestellung belastet ist. An dieser Stelle mag kurz betont werden, daß gerade die von den bisher veröffentlichten

Tabelle VI.

Patient	I Serum allein n_D 1,3		Differenz	II Serum + Ca. I n_D 1,3		Differenz	III Serum + Ca. II n_D 1,3		Differenz	IV Serum + Hoden n_D 1,3		Differenz	V Serum + Lunge n_D 1,3		Differenz	Klinische Diagnose	Bemerkungen
		nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			
♀ 4	5084	5084	0	5035	5028	− 7	4995	4995	0	5036	5047	+11	4947	4962	+15	Lungentuberkulose	
♀ 5	4973	4976	+ 3	4910	4921	+11	4908	4908	0	4903	4909	+ 6	4853	4854	+ 1	Lungentuberkulose	
♀ 6	5165	5173	+ 8	5130	5133	+ 3	5114	5113	− 1	5077	5077	0	5094	5101	+ 7	Hysterie	
♀ 7	5014	5018	+ 4	4962	4943	−19	4966	4952	−14	4938	4933	− 5	5011	4991	−20	Beningne Pylorusstenose	
♂ 8	4870	4891	+21	4847	4855	+ 8	4823	4824	+ 1	4844	4849	+ 5	4847	4855	+ 8	Malaria tertiana	Sterilität von I zweifelhaft
♂ 9	4942	4944	+ 2	4876	4865	−11	4853	4853	0	4849	4862	+13	4899	4906	+ 7	Croupöse Pneumonie	Status n. Basedowstrumaoperation
♂ 10	4738	4745	+ 7	4694	4697	+ 3	4661	4654	− 7	4680	4680	0	4694	4694	0	Bronchopneumonie	
♀ 11	4821	4821	0	4805	4803	− 2	4746	4746	0	4731	4731	0	4750	4756	+ 6	Grippe	
♀ 13	4821	4822	+ 1	4804	4801	− 3	4761	4760	− 1	4765	4765	0	4768	4768	0	Bradykardie	
♂ 18	4871	4879	+ 8	4806	4809	+ 3	4806	4802	− 4	4792	4806	+14	4817	4827	+10	Mitralstenose + insuff.	
♂ 22	5102	5111	+ 9	5002	5002	0	4940	4940	0	4989	4991	+ 2	4991	5003	+12	Thrombophlebitis	

Tabelle VII.

Patient	I Serum allein n_D 1,3		Differenz	II Serum + Ca. I n_D 1,3		Differenz	III Serum + Ca. II n_D 1,8		Differenz	IV Serum + Hoden n_D 1,0		Differenz	V Serum + Lunge n_D 1,8		Differenz	Klinische Diagnose	Pathol.-anatomische Diagnose Bemerkungen
		nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			nach zirka 24 Std.			
♂ 14	4877	4886	+ 9	4816	4813	− 3	4820	4828	+8	4821	4820	− 1	4820	4829	+ 9	Pyloruscarcinom	Operationsbefund: Stark geschrumpfter Tumor
♂ 19	5186	5184	− 2	5125	5118	− 7	5112	5112	0	5054	5062	+ 8	5106	5125	+19	Oberkiefercarcinom	Mikroskop.: Plattenepithelcarcinom
♂ 20	5077	5106	+29	5027	5028	+ 1	4995	4988	−7	4931	4927	− 4	5001	5011	+10	Halsdrüsencarcinom (Metastasen, Primärgeschwulst?)	Mikr.: Carcinomnester in z. T. verödetem lymphatisch. Gewebe. Sterilität von I zweifelhaft
♂ 25	5065	5064	− 1	4973	4988	+15	4928	4929	+1	4930	4900	−30	5005	5009	+ 4	Kardiacarcinom	Mikroskop.: Plattenepithelcarcinom
♂ 26	4858	4860	+ 2	4738	4738	0	4767	4772	+5	4717	4738	+21	4787	4794	+ 7	Magencarcinom	Mikrosk.: bestätigt, doch nähere Zelldifferenzierung infolge Gewebszerfalls unmöglich
♀ 27	5256	5275	+19	5172	5167	− 5	5089	5098	+9	5131	5139	+ 8	4936	4973	+37	Pyloruscarcinom m. Pleura u. Zwerchfellmetastasen	
♂ 29	4984	4994	+10	4745	4745	0	4816	4814	−2	4813	4833	+20	4896	4918	+22	Vgl. 26. Patient moribund	
♂ 30	4761	4765	+ 4	4700	4694	− 6	4701	4698	−3	4680	4680	0	4642	4642	0	Magencarcinom	Klinisch gesichert

Tabelle VIII.

♀ 21	4490	4496	+ 6	4418	4417	− 1	4412	4418	+6	4426	4452	+26	4388	4399	+11	Sarkom der Ovarien und des Bauchfells	Mikroskop.: Sarkom
♂ 31	4788	4798	+10	4712	4721	+ 9	4717	4718	+1	4713	4724	+11	4657	4680	+23	Melanosarkom mit Metastasen in den inneren Organen. Lungen ganz von Metast. durchsetzt. Hoden fast frei	Mikroskop.: Melanosarkom

Ergebnissen etwas abweichenden Resultate begreiflicherweise zu weitgehender Peinlichkeit und Selbstkritik bei der gesamten Versuchsdurchführung anspornten, ohne daß sich an den Befunden etwas änderte. De Crinis und Mahnert geben an, „daß gewisse Unsicherheiten der Ablesung bei trüben Seren eine zweifellose Fermentreaktion erst dann annehmen lassen, wenn der Ausdrück n_{D_1}, — n_D den Wert von mindestens 7 erreicht", es wird also eine Beobachtungsbreite von 1—6 als Fehlerquelle zugestanden. Demgegenüber muß betont werden, daß die hier vorliegenden Ausschläge durchaus nicht auf erschwerte Ablesung bei trüben Seren zurückgeführt werden können; sie wurden in der überwiegenden Mehrzahl bei befriedigend scharfer Beobachtungsmöglichkeit abgelesen. War einmal bei einem Serum irgendwie Trübung aufgetreten, so war zumeist wirklich exakte Ablesung so erschwert und unsicher, daß der Versuch lieber verworfen wurde. Nein, die gefundenen positiven und negativen Ausschläge im reinen Serum zeigten offensichtlich, daß doch zuweilen ohne den Einfluß eines Zusatzes im Serum Änderungen auftreten können, die das Pulfrichsche Refraktometer aufzudecken vermag. Über die Natur und den Grund der Änderungen kann man sich nur Vermutungen hingeben; das Moment der Verdunstung wurde durch exakten Luftabschluß ausgeschaltet, und damit wären ja auch nicht die negativen Ausschläge erklärt. Möglicherweise spielen geringfügige chemische Umlagerungen der verschiedenen Globuline etwa im Sinne einer Autolyse eine Rolle, und bei den Organversuchen vielleicht doch Diffusion zwischen der zur Quellung verwandten physiologischen NaCl-Lösung und dem Serum. Letzterer Annahme steht allerdings eigentlich die nicht unerhebliche Zahl der Versuche mit 0 Ausschlag bei der doch stets gleichbleibenden technischen Versuchsdurchführung durchaus entgegen.

Beim Überblick über die vorliegenden Resultate der Tabellen III bis VIII ergibt sich rechnerisch im Durchschnitt etwa der Wert + 9, — 8 als Grenze, innerhalb deren sich die Ausschläge bewegen, bei denen die Einwirkung eines stattgehabten Abbaues nicht vorliegen kann. Es würde sich also die etwa im Rahmen der Norm liegende zulässige Beobachtungsbreite hier noch größer als bei de Crinis und Mahnert darstellen, die sie ja mit + 7 bezifferten.

Diese Werte sind auch in drei Beobachtungen der Tabelle III, die sich über 3- bzw. 4mal 24 Stunden erstreckten, nicht überschritten. Es scheint sich also um keine mit der Zeit fortschreitende Änderungstendenz des Serums zu handeln, was gewiß der Fall wäre, wenn der Grund in bakteriellen Verunreinigungen infolge mangelnder Asepsis der Versuchsdurchführung zu suchen wäre.

Als deutlicher Ausschlag über diese Beobachtungsbreite hinaus kann wohl erst ein Brechungsindexwert von etwa 3 angesehen werden, der 1 Teilstrich der Zehntelgradskala des Refraktometers ziemlich entspricht. Die negativen Ausschläge sind nicht als Ausdruck einer für die Frage des Ausfalls der Abderhaldenschen Reaktion in Betracht kommenden Konzentrationsänderung anzusehen, da diese Änderung jedenfalls nicht auf Organabbau im Sinne der Reaktion beruht.

Um einen für positiven Ausfall der Abderhaldenschen Reaktion beweisenden Organabbau anzuzeigen, müßte der Ausschlag eines Versuchs somit den Wert von + 12 (9 + 3) überschreiten.

In den 180 Einzelversuchen der Tabellen III bis VIII sind insgesamt 18 positiv zu nennende Resultate zu verzeichnen, d. h. 10%. Im einzelnen ergaben:

Serum allein	unter	44	Fällen	3	mal	posit. Resultat	= 7,0%
Serum + Milz	„	23	„	2	„	„	= 8,7%
Serum + Lunge	„	34	„	6	„	„	= 17,6%
Serum + Hoden	„	34	„	6	„	„	= 17,6%

Unter den 3 positiven Fällen des ohne Zusatz von Organ untersuchten Serums findet sich im Protokoll von 8 in Tabelle VI „Sterilität zweifelhaft"; bei 20 und 27 in Tabelle VII fehlt eine ausreichende Erklärung, wenn man diese nicht in der doch immerhin recht diffizilen Methode suchen will, bei welcher sich wohl einmal unvermerkt ein Fehler einschleichen kann. — Pathologische Veränderungen an Milz und auch an Lunge können sich oft genug klinischem Nachweis entziehen; so gibt die klinische Diagnose der beiden positiven Milzversuche (IV, Tab. IV u. XXVII, Tab. V) keinen Anhalt für den Befund; unter den positiven Lungenversuchen betreffen Fall XXII, Tab. V, 4, Tab. VI, 27, Tab. VII, 31, Tab. VIII wohl Patienten mit Lungenaffektionen, doch zeigen andererseits ähnliche Fälle kein positives Resultat. — Der Ausfall der Hodenversuche hat insofern besonderes Interesse, als ein etwa unspezifischer Abbau sich bei der Verwendung von Frauenserum

erweisen mußte. Nur einmal (21, Tab. VIII) ist dies Vorkommnis zu verzeichnen; ob ein Versuchsfehler vorliegt, ist nicht entscheidbar.

Bei dem Versuch, klinische Studien hierüber zu machen, dürfte man sich, wie ersichtlich, jedenfalls nicht auf drei Organsubstrate beschränken. Hier kam es aber nur erst darauf an, eine wenn auch beschränkte Beobachtungsbasis von Durchschnittsabbauwerten zu schaffen.

Bei der Heranziehung von pathologischen Substraten von Carcinom I und II bedurfte es zunächst der wichtigen Feststellung, ob das Serum von nicht mit Carcinom Behafteten irgendwie auf sie einwirkt und einen Ausschlag ergibt. Tabelle VI zeigt, daß es nicht der Fall ist; weder mit Ca I noch mit Ca II ist in den 11 untersuchten Fällen ein positives Resultat zu verzeichnen. — Die wesentlichste Voraussetzung war demnach gegeben, um nun auch Serum von Carcinomkranken mit diesen Substraten zusammenzubringen. In Rücksicht auf die oben dargelegten Erfahrungen Abderhaldens über die weitgehende Spezifität der Abwehrfermente bei seinen Tumoruntersuchungen wurde bei der Auswahl der hierfür verwendeten Sera derart verfahren, daß sie nur von solchen Patienten entnommen wurden, bei denen die Diagnose durch Operation oder Probeexcision hatte auch pathologisch-anatomisch gesichert und geklärt werden können. Nur bei Patient 30 hatte die allerdings völlig gesicherte klinische Diagnose „Magencarcinom" genügen müssen.

Die in der Tabelle VII niedergelegten, fast durchweg negativen Resultate waren eigentlich überraschend und enttäuschend, wäre es doch fast zu erwarten gewesen, daß bei dem Substrat Ca I, das, wie oben geschildert, aus einer ganzen Reihe von verschiedenartigen Carcinomen zusammengemischt war, mit mehreren Seren ein Abbau erfolgte. Dies trat aber bei den 8 Fällen nur einmal ein (Pat. 25), d. h. in 12,5%. Macht man sich die angegebene Auffassung Abderhaldens über die Spezifität der Abwehrfermente zu eigen, so liegt möglicherweise ein Erklärungsversuch hierfür in der Annahme, daß bei den anderen Fällen vielleicht in der Substratmischung die Menge des gerade zum Abbau geeigneten Carcinoms bei der angesetzten Gesamtmenge von 0,01 g zu gering war oder ganz fehlte. Bei Substrat Ca. II wurde ein positives Ergebnis gar niemals erzielt; in Anbetracht der Seltenheit des verwandten Substrats (primäres Gallenblasencarcinom) hat allerdings ein spezifisch ganz genau entsprechendes Serum wohl kaum

in den angestellten Versuchen eingewirkt. Bei den Sarkomfällen der Tabelle VIII entspricht der negative Ausfall mit den beiden Carcinomsubtraten durchaus der Erwartung.

Soweit man aus den meist negativen Ergebnissen Schlüsse ziehen darf, scheinen diese Befunde die von Abderhalden selbst an einem viel größeren Material mit seiner Dialysiermethode gemachten Erfahrungen über die Spezifität der Abwehrfermente gegenüber Tumoren zu bestätigen; er faßte diese ja in dem Satze zusammen „Plattenepithelkrebs, Scirrhus und Zylinderepithelkrebs sind nach den vorliegenden Untersuchungen zweifellos biologisch verschieden". Es muß erwähnt werden, daß im striktesten Gegensatz hierzu die Ergebnisse der bereits erwähnten Arbeit von de Crinis und Mahnert „Über den serologischen Carcinomnachweis" stehen. Die Autoren haben alle ihre Mikro-Abderhalden-Reaktionen mit einem Carcinomsubstrat, das von einem Uteruscarcinom herrührte, angestellt und damit geradezu blendend eindeutige Ergebnisse gehabt. Denn das Uteruscarcinomsubstrat wurde abgebaut, gleichgültig ob Serum eines Carcinoms der Haut, der verschiedenen Abschnitte des Magendarmkanals, des männlichen oder weiblichen Genitale, der Mamma oder eines Epithelioms darauf einwirkte, nicht aber durch ein „Normal"-serum. Dieser aus dem Jahre 1918 stammenden Arbeit zufolge erscheint das Problem exakter Carcinomdiagnostik bereits gelöst.

Nach den hier gemachten Erfahrungen scheint dagegen die Möglichkeit eines weiteren Ausbaues der Versuche überhaupt nur in bewußtem Eingehen auf die komplizierten spezifischen Verhältnisse des Carcinom- und Organaufbaus zu liegen. Will man Einblick gewinnen in Abwehrfermente, die auf Organe eingestellt sind, muß man das Serum tunlichst mit allen in Betracht kommenden Organsubstraten prüfen, will man Einblick gewinnen in Abwehrfermente, die auf Tumoren eingestellt sind, muß man das Serum tunlichst mit allen in Betracht kommenden Tumorsubtraten prüfen. Nur so kann man schwere Fehler ausschalten, die offenbar in der ganz unberechtigten Vereinfachung dieser biologischen Fragen liegen. Die Mikro-Abderhaldenmethode Pregls scheint vermöge ihres geringen Bedarfs an Serum für jeden einzelnen Versuch die Möglichkeit zu so ausgedehnten Versuchsreihen zu bieten; bei peinlicher, durchaus aseptischer Handhabung ist sie hinreichend exakt, wenn auch, wie dargetan, bei

der Verwertung der Resultate große Sorgfalt erforderlich ist und manche Unklarheiten noch der Deutung harren. Eine Steigerung der quantitativen Genauigkeit der Ausschläge ist wohl auch noch zu erzielen durch Berücksichtigung der Größenverhältnisse aller zur Verwendung kommenden Materialien. Endgültige Klärung, ob die Temperatur, bei welcher die Einwirkung des Serums auf das Organsubstrat vor sich geht, eine irgendwie belangvolle Rolle bei dieser Methode spielt, so wie es Lindstedt in seiner Arbeit „Zur Kritik der Abderhaldenschen Fermentlehre" (Deutsche medizinische Wochenschrift, 1918, Nr. 27) für die Originalmethode Abderhaldens behauptete, ist natürlich in erster Linie anzustreben. Nach den bisher vorliegenden Arbeiten scheint dies nicht der Fall zu sein und es konnte von einer allgemeinen Verwendung des Brutschrankes abgesehen werden. Eine Reihe darüber angestellter Stichproben schien auch hier in diesem Sinne zu sprechen; die Frage ist aber wichtig genug, um zum Gegenstand noch eingehenderer Prüfung gemacht zu werden.

Nach weiterer reiflicher systematischer Durcharbeitung mag dann die Methode ersprießliche Verwendung für die verschiedenartigste klinische Fragestellung finden können, von der, wie mehrfach betont, hier noch völlig abgesehen wurde. Bei Versuchen auf breiter Basis verlangt aber die Gewinnung und Herstellung all der notwendigen Organ- und Tumorsubstrate überreiches Krankenmaterial und große Arbeitskraft. Namentlich die Erlangung wirklich einheitlicher, mikroskopisch wohldefinierter Tumorsubstrate in hinreichender Menge dürfte für den einzelnen außerordentliche Schwierigkeiten bieten. Auch hier wäre es ratsam, auf einen Vorschlag Abderhaldens zurückzugreifen, der sich von der vorläufigen Zentralisierung und straffen Organisierung all dieser Forschungen erst die rechte Förderung der Erkenntnis abgesehen von bedeutender Energieersparnis verspricht.

Eine solche Vereinheitlichung, die gleichzeitig die ganz unerläßliche Stetigkeit der Arbeitsweise verbürgte, wäre gewiß am besten imstande, die zahllosen Widersprüche zu klären, die sich bei der Forschung nach Abwehrfermenten immer wieder ergeben; sie könnte am ehesten die Methode reif machen zur allseitigen Gewinnung brauchbarer Resultate für die praktische Medizin und den großen heuristischen Wert der Lehre Abderhaldens für die gesamte Naturwissenschaft erweisen.

Die Tageskurve der Stalagmone.

Von

Sven Zandrén.

(Aus dem Institut für Kolloidforschung in Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 3. Dezember 1920.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

Der normale Urin stellt eine wässerige Lösung nicht nur von Krystalloiden dar, sondern enthält auch eine Anzahl adyalysierbarer Stoffe von kolloider Natur.

Im Gegensatz zu den Krystalloiden waren diese kolloiden Stoffe nur wenig Gegenstand von Untersuchungen, und man weiß sowohl über ihre Bedeutung, als auch über ihre quantitativen und qualitativen Verhältnisse sehr wenig. Eine der wichtigsten Ursachen dieser Unkenntnis liegt sicher darin, daß die Methoden, welche u. a. von Savaré, Ebbecke, Lichtwitz und Rosenbach angewendet wurden, für den klinischen Gebrauch zu kompliziert waren.

Eine wichtige gemeinsame Eigenschaft dieser Stoffe ist ihr Vermögen, die Oberflächenspannung des Lösungsmittels herabzusetzen. Der erste Versuch, diese Eigenschaft der Kolloide methodisch auszuwerten, mit dem Zwecke, auf diese Weise ein Maß für ihre Menge im Urin zu erhalten, wurde schon 1905 von T. G. Donnan und W. D. Donnan gemacht. Die Resultate waren jedoch wenig befriedigend, was sicherlich darauf beruht, daß der untersuchte Originalurin direkt zur Verwendung kam, ohne daß auf die Bedeutung der molaren Konzentration und der H-Ionenkonzentration für die Oberflächenspannung Rücksicht genommen wurde. Dadurch bekamen sie Werte, welche miteinander nicht vergleichbar sind. Schemensky hat gefunden, daß, wenn man auf diese zwei Faktoren Rücksicht nimmt und ihren Einfluß dadurch eliminiert, daß man Urine vom gleichen spezifischen Gewicht und von der gleichen H-Ionenkonzentration untersucht, man Werte für die Oberflächenspannung bekommt, welche für die Tagesurinmenge bei gesunden Menschen relativ konstant sind. Bei einer großen Zahl von Krankheiten fand er dagegen eine nennenswerte Herabsetzung der Oberflächenspannung des Urins, was also auf eine Vermehrung der Urinkolloide hindeutet. Bechhold und Reiner haben die chemische

Natur dieser Stoffe untersucht. Sie fanden, daß es sich um eine Mehrzahl von Stoffen handelt, die zur Gruppe der Kolloide oder der Semikolloide gehören; sie sind von verschiedener Dispersität, in Wasser löslich, mit amphoterer oder schwach saurer Reaktion, wärmestabil und gut adsorbierbar. Diese Gruppe von Stoffen im Urin, welche also herabsetzend auf die Oberflächenspannung des Urins wirken, wird von Bechhold unter dem Namen Stalagmone zusammengefaßt.

Während meines Aufenthaltes am Institut für Kolloidforschung in Frankfurt a. M. führte ich auf Veranlassung von Professor Bechhold eine Anzahl von Untersuchungen über die Ausscheidung der Stalagmone unter physiologischen Verhältnissen durch. Die Untersuchungen sind auf Selbstversuchen basiert; die Oberflächenspannung des Urins wurde mittels des Traubeschen Stalagmometers mit einer Tropfenzahl von 69,2 bestimmt. Die Methodik war hauptsächlich die von Schemensky angewendete.

Der Urin wurde filtriert und mit destilliertem Wasser bis zu einem spez. Gewicht von 1,010 verdünnt; durch Zusatz einer geringen Menge 10proz. HCl — sie schwankte zwischen 0,04 und 0,09 cc — wurde der Urin auf die gleiche H-Ionenkonzentration von $10^{-4,1}$ bis $10^{-3,8}$ eingestellt, wobei Methylorange und Kongo als Indicatoren angewendet wurden. Die Zahlen, die man in den Kurven findet, geben das Verhältnis zwischen der Tropfenzahl des auf diese Weise vorbereiteten Urins und der gleichen Menge Wassers, also den Quotienten der Stalagmone des Urins an. Eine höhere Zahl deutet also auf eine geringere Oberflächenspannung und folglich eine größere Menge Stalagmone. Da Schemenskys Untersuchungen ergaben, daß die Krystalloide des Urins unbedeutend auf die Oberflächenspannung einwirken, so wurde die etwas umständliche Adsorption an Tierkohle für unsere Untersuchung nicht als notwendig angesehen. Die Stalagmonenquotienten, die man auf diese Weise erhält, liegen jedoch im Durchschnitt etwas höher. Ich habe gleichzeitig auch Untersuchungen ohne HCl-Zusatz gemacht. Diese Werte, welche in den Kurven wegen Platzmangels nicht angegeben sind, liegen etwas niedriger, verlaufen aber im großen und ganzen mit den sauren Quotenwerten überein; sie wichen am meisten ab, wenn der Urin alkalisch war.

Lichtwitz kam durch seine Untersuchungen mit der Goldzahlmethode zu der Auffassung, daß der Gehalt des Urins an kolloiden Stoffen in einem gewissen Verhältnis zu der molaren Konzentration des Urins stehe und ein Ausdruck für die Sekretions- und Konzentrationsarbeit der Nierenzellen sei. Doch sieht er es auch für wahrscheinlich an, daß ein Teil der Urinkolloide die Niere passiert, also vom Serum herstammt.

Die erste Frage, die es für mich zu beleuchten galt, war, auf welche Weise diese letztere Kolloidausscheidung im Laufe von 24 Stunden vor sich ging. Durch ständige Einstellung des Urins

auf das gleiche spezifische Gewicht glaubte ich den Wechsel in der Kolloidzufuhr, der offenbar von der wechselnden Konzentrationsarbeit der Nierenzellen herrührt, ausschließen zu können und durch ständiges Arbeiten mit der gleichen H-Ionenkonzentration im Urin konnte der Faktor, den eine wechselnde Elektrolytdissociation auf die Oberflächenspannung des Urins ausübt, eliminiert werden. Die Werte der Stalagmonenquoten, welche ich unter solchen Umständen erhielt, waren ein relatives Maß und ein Ausdruck für die Menge Kolloide, welche zu verschiedenen Zeiten die Niere vom Serum her passierten. Bei Bestimmung von Zweistundenportionen von 8 Uhr morgens bis 8 Uhr abends bei gewöhnlicher gemischter Kost, welche um 8 bzw. 9, 2 und 9 Uhr eingenommen wurde, bekam ich von Tag zu Tag eine sehr konstante Kurve von folgendem Aussehen.

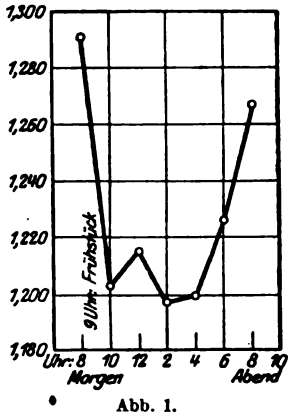


Abb. 1.

Wie aus der Kurve hervorgeht, gibt der Nachturin einen hohen Wert; danach tritt eine sehr rasche Senkung der Kurve ein, die sich im großen und ganzen konstant hält, worauf wir um 8 Uhr abends wieder eine Steigerung konstatieren. Diese normale Eliminationskurve der Stalagmone ist, wie ich bei einer großen Zahl von Versuchen zu konstatieren Gelegenheit hatte, sehr konstant, vorausgesetzt, daß die Nahrung und die Mahlzeitsstunden nicht allzusehr wechseln.

Da es sich darum handelte, eine Erklärung für diesen Wechsel in der Elimination der Stalagmone zu suchen, so lag es auch am nächsten, an den Einfluß der Mahlzeiten zu denken. Um dies herauszubekommen, machte ich Versuche, indem ich eine oder ein paar Mahlzeiten fortnahm und untersuchte, welchen Einfluß dies auf die Kurve ausübte. In der Tat bekam man auch eine Veränderung der Kurve, wie dies aus Abb. 2 hervorgeht. Die Auslassung der Mittags- und Abendmahlzeit am vorhergehenden Tag zeigt sich in einem Wegfall der Morgenzacke der Kurve. Um die Kalorienzufuhr zu sichern, habe ich den vorigen Tag zwei große Mahlzeiten um 8 und 10 Uhr eingenommen. Wenn ich mit unzureichenden Mahlzeiten länger als einen Tag

fortsetzte, so bekam ich eine bedeutende Steigerung der Kurve, welche durch den Einfluß der Mahlzeiten nicht erklärt werden konnte. Es ging jedoch aus diesen Versuchen hervor, daß sehr wahrscheinlich ein Zusammenhang besteht zwischen den Mahlzeiten und den Spitzen der Kurve. Um den störenden Einfluß des Hungers auszuschließen, nahm ich eine Anzahl Versuche vor mit hinreichenden Mahlzeiten per Tag, welche aber zu sehr wechselnden Zeiten eingenommen wurden. Es zeigte sich da, daß sich die Zacken der Kurven nach den Mahlzeitsstunden änderten. Als Beispiel führe ich den folgenden Versuch in Kurve Nr. 3 an. Der Versuch erstreckte sich über $2^1/_2$ Tage und die Mahlzeitsstunden sind am ersten Tage 9, 4 und 11 Uhr und am zweiten Tage 1 Uhr mittags und 8 Uhr abends. Wie aus der Kurve hervorgeht, treten die Steigerungen der Stalagmonenkonzentration im Laufe von 24 Stunden nicht zu bestimmten Zeiten auf, sondern folgen den Mahlzeiten in der Weise, daß die höchsten

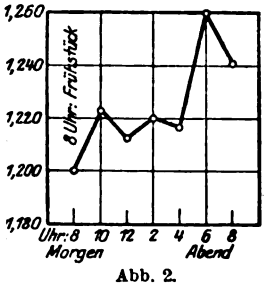


Abb. 2.

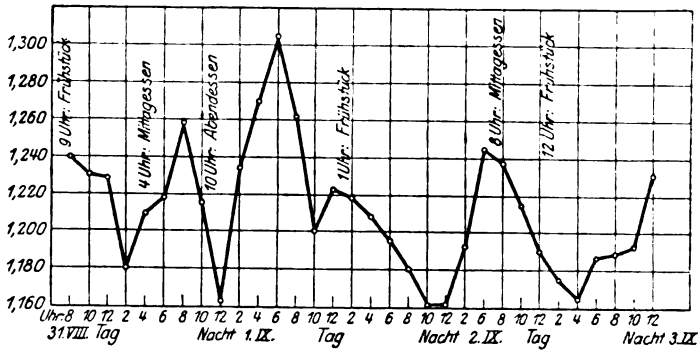


Abb. 3. Das 8-Uhr-Mittagessen erfolgte nicht, wie in der Kurve irrtümlich angegeben am 2. IX., sondern am 1. IX. 8 Uhr abends.

Werte der Stalagmonenquotienten 10—14 Stunden nach Einnahme der Mahlzeit eintreffen. Mit der Steigerung des Gesamtstickstoffs im Urine verglichen, welche nach den Mahlzeiten eintritt, kommt diese Kolloidabsonderung später. Nach Pettenkofer, Voit, Tigerstedt u. a. zeigt sich der Einfluß der Nahrung hinsichtlich des Gesamtstickstoffs schon nach 6—8 Stunden.

Die nächste Frage war, ob die Steigerung der Elimination der Stalagmone, die, wie wir fanden, durchschnittlich 12 Stunden nach der Einnahme der Nahrung eintrat, von Nahrungsstoffen aller Art hervorgerufen wird, oder ob in dieser Hinsicht ein Unterschied zwischen Eiweiß, Fett und Kohlenhydraten konstatiert wer-

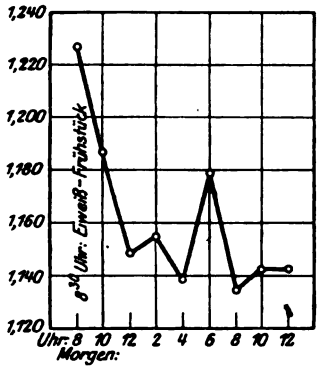


Abb. 4.

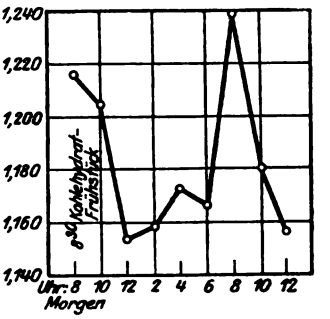


Abb. 5.

den kann. Durch den Vergleich zwischen den Eliminationskurven nach Mahlzeiten, die ausschließlich aus einem dieser Nahrungsstoffe bestanden, glaubte ich eine Antwort auf diese Frage erhalten zu können. Während mehrerer Tage nahm ich also um $^1/_2$9 Uhr morgens eine Mahlzeit ein, welche abwechselnd aus Eiweiß, Kohlenhydraten und Fett bestand. Das Resultat geht aus den Kurven 4, 5 und 6 hervor. Eiweißmahlzeiten geben eine niedrige Eliminationskurve mit einer unbedeutenden Steigerung, welche relativ früh, schon nach 10 Stunden eintritt. Kohlehydrate ergeben eine stark ausgeprägte Steigerung 12 Stunden nach der Mahlzeit und nach Fett bekomme ich eine Kurve, die ein wenig an die Hungertage erinnert, d. h. sehr hoch und gleichmäßig verlaufend und ohne Zacke am Abend. Da ich bei zahlreichen Versuchen die gleichen Verhältnisse fand, glaube ich Zufälligkeiten ausschließen und mit Berechtigung den Schluß ziehen zu können, daß es hauptsächlich Eiweiß und Kohlenhydrate sind, welche die Steigerung in der Elimina-

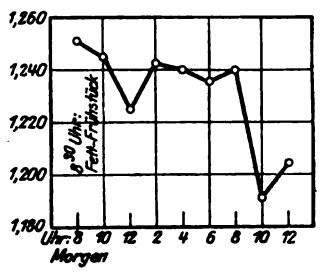


Abb. 6.

tion der Stalagmone hervorrufen, soweit sie in Zusammenhang mit der Nahrung bemerkt wurde.

Bei den oben dargestellten Versuchen unter Weglassung einer oder zweier Mahlzeiten, in der Absicht, den Zusammenhang zwischen der Elimination der Stalagmone und der Nahrungsaufnahme zu studieren, bekam ich bei einigen Kurven Zacken in der Kolloidabsonderung, denen keine Mahlzeiten entsprachen. Ich bekam bald den Eindruck, daß auch der Hungerzustand eine Vermehrung der Stalagmone im Urin hervorrief. Um die Hungerkurve näher zu studieren und ein Urteil zu gewinnen, wann die vermehrte Absonderung eintritt, wurde ein Hunger-

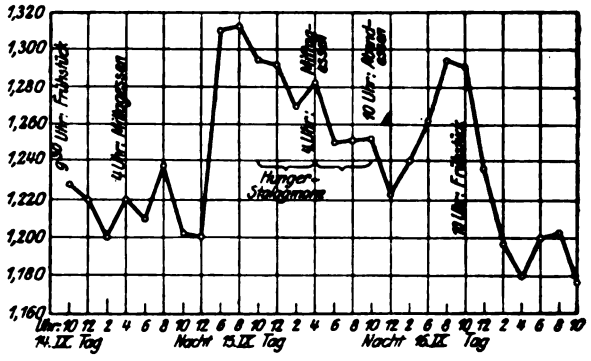


Abb. 7.

versuch angestellt, der sich über 24 Stunden erstreckte, siehe Kurve Nr. 7.

Ein Blick auf die Kurve zeigt uns einen bedeutend höheren Stalagmonenquotienten am Vormittag während des Hungertags, also 16—24 Stunden nach der letzten Mahlzeit, im Vergleich zu dem Tage vorher und nachher, wo gewöhnliche gemischte Kost eingenommen wurde. Erst 8 Stunden nach der Mittagmahlzeit kommt die Kurve wieder auf ihre normale Höhe herab, um als eine Folge der großen Mahlzeit, sofort wieder anzusteigen.

Die Steigerung in der Elimination der Stalagmone, die offenbar im Hungerzustande zustande kommt, scheint mir ein gewisses Interesse im Hinblick auf die Frage der chemischen Natur dieser Stoffe zu besitzen. Die Auffassung Bechholds und Reiners, daß die Oxyproteinsäure unter den Stalagmonen vertreten sein muß, bekommt dadurch eine besondere Stütze. Weiss hat nämlich gefunden, daß gerade im Hungerzustande schon während

des ersten Tages eine prozentuale Vermehrung der Oxyproteinsäureabsonderung im Urine zustande kommt und es liegt nahe, die verringerte Oberflächenspannung des Urins im Hungerzustande auf diese Oxyproteinsäuren zurückzuführen.

Während der Versuchstage beschäftigte ich mich mit Laboratoriums- und Krankenhausarbeit, vermied aber starke körperliche Anstrengungen. Irgendwelche Anhaltspunkte dafür, daß die Stalagmonenkurve mit den täglichen Körperbewegungen in Zusammenhang stehe, habe ich nicht erhalten. Dies geht ja auch daraus hervor, daß wir auch zur Nachtzeit den gleichen Wechsel in der Stalagmonelimination konstatieren können. Daß dagegen eine ungewohnte, starke körperliche Anstrengung eine vorübergehende Steigerung mit sich führen könnte, war sehr wahrscheinlich. Ein paar Versuche in dieser Richtung, welche ich vornahm, zeigten eine mäßige und rasch vorübergehende Vermehrung der Urinkolloide 2—3 Stunden nach der körperlichen Anstrengung.

Die Untersuchungen über die Tageskurve der Stalagmone, über welche ich hier berichtet habe, wurden, wie erwähnt, an einem Urin von dem konstantem spez. Gew. von 1,010 ausgeführt. Die Absicht war dabei, den einen der Faktoren auszuschließen, der, wie man annimmt, auf die Oberflächenspannung des Urins einwirkt, nämlich die geänderte Molekularkonzentration. Meine Absicht mit diesen Untersuchungen war ja, herauszufinden, ob auch oberhalb der Nieren liegende Faktoren herabsetzend auf die Oberflächenspannung des Urins wirken. Der wechselnde regelmäßige Verlauf der Kurven unter normalen Verhältnissen zeigt, daß dies mit großer Wahrscheinlichkeit der Fall ist. Man kann möglicherweise einwenden, daß die Herabsetzung der Oberflächenspannung, die sich im Zusammenhang mit den Mahlzeiten zeigt, das Resultat einer gesteigerten Nierenarbeit sei. Diese Auffassung kann jedoch im Hinblick auf die im Zusammenhang mit dem Hungerzustande eintretende Steigerung der Stalagmone kaum geltend gemacht werden. Es scheint mir am nächsten zu liegen, die Veränderungen in der Oberflächenspannung des Urins, welche bei dem gleichen spez. Gewicht in Erscheinung treten, als Resultat eines vermehrten Durchtritts von Kolloiden bzw. Semikolloiden durch die Nieren zu erklären. Eine weitere Stütze dafür könnte man erhalten, falls man eine Herabsetzung der Ober-

flächenspannung des Serums nach den Mahlzeiten nachweisen könnte. Ein paar Versuche, welche ich vornahm, haben ergeben, daß das Serum nach leerem Magen möglicherweise eine höhere Oberflächenspannung besitzt, als ungefähr 6—8 Stunden nach der Hauptmahlzeit. Die Unterschiede sind jedoch so unbedeutend, daß ich es nicht wage, aus einzelnen Versuchen einen sicheren Schluß zu ziehen, ich hoffe aber, auf diese Frage später zurückkommen zu können. Eine Untersuchung von Morgan und Woodward, die durch Wägungsmethoden eine Herabsetzung der Oberflächenspannung des Serums nach der Mahlzeit feststellen konnte, weist auch nach dieser Richtung. Eine notwendige Voraussetzung dafür, daß die Werte, welche wir in den Kurven finden, wirklich ein Maß für einen vermehrten Durchtritt von Kolloiden bzw. Semikolloiden aus dem Serum darstellen, ist der Umstand, daß die geänderte Urinkonzentration eine proportionale Veränderung der Oberflächenspannung zur Folge hat. Man muß also mit anderen Worten die Beziehung zwischen den zwei Faktoren herausbringen, welche auf die Oberflächenspannung des Urins einwirken: die Beziehung nämlich zwischen den kolloiden Stoffwechselprodukten des Serums einerseits und der auf der Sekretionsarbeit der Nieren beruhenden Kolloidbeimischung andererseits. Es galt also zu entscheiden, ob die gleiche Menge der aus dem Serum stammenden Kolloide, welche mit einem salzreichen, also konzentrierten Urin abgesondert wurden, eine der Urinkonzentration entsprechende proportionale Steigerung der Stalagmone ergab, wie die gleiche Menge, welche mit einem wasserreichen Urin abgesondert wurde. Ist dies nicht der Fall, so könnte ja ein Teil der Kurvenschwankungen eine Folge der geänderten Kochsalzzufuhr mit der Nahrung sein. Ein salzreicher Urin müßte nämlich bei unserer Methodik mehr verdünnt werden als ein salzarmer und eine Senkung der Kurve könnte als ein Ausdruck für eine gesteigerte Salzzufuhr mit der Nahrung im Vergleich mit der vorhergehenden sein. Über diese Frage suchte ich durch einige Versuche mit wechselnder Kochsalz- und Wasserzufuhr Klarheit zu bekommen. An dem einen Tage wurden dem Frühstück 10 g Kochsalz hinzugefügt und an dem anderen Tage trank ich $^1/_2$ l Wasser extra. Im ersteren Falle zeigte der Urin eine Konzentration bis zu 1,030; im letzteren Falle eine Verdünnung bis zu 1,011. Die beiden Stalagmonenkurven, die von

dem unverdünnten Urin erhalten wurden, waren einander sehr ungleich, während sie bei einer Verdünnung des Urins auf 1,010 sowohl mit einander wie auch mit den vorhergehenden Tageskurven übereinstimmten.

Durch Erzeugung einer raschen Veränderung der Urinkonzentration während jener Tagesstunden, da die Kurve einen gleichmäßigen Verlauf zu haben pflegt und der oberhalb der Nieren sich geltend machende Einfluß somit konstant ist, konnte es ebenfalls möglich sein, einen Einblick in die Beziehungen zwischen den zwei Faktoren zu erhalten. Zwischen 12 Uhr mittag und 6 Uhr nachmittag wurde durch reichliches Trinken eine Senkung des spez. Gewichts des Urins von 1,024 auf 1,011 zustande gebracht. Die Werte der Stalagmonenkurve, die an dem auf 1,010 verdünnten Urin erhalten wurden, waren trotzdem konstant. Daraus geht hervor, daß diese Herabsetzung der Urinkonzentration von einer proportionalen Vermehrung der Oberflächenspannung oder eine Verminderung der Stalagmone gefolgt sein muß, in gleicher Weise, wie wenn ich die Verdünnung im Reagensglase vorgenommen hätte.

Die hier mitgeteilten Untersuchungen scheinen also die Auffassung von Lichtwitz über den Ursprung der Urinkolloide zu bekräftigen. Wir müssen offenbar teils mit einer Beimischung von den Nieren, welche mit der Urinkonzentration proportional verläuft und teils mit einer Passage von Serumbestandteilen rechnen. Die letztere Gruppe von Stoffen steht zum Teil in deutlichem Zusammenhang mit der Nahrung; insbesondere Kohlenhydrat- und Eiweißnahrung scheinen eine sehr betonte Steigerung dieser aus dem Serum stammenden Stalagmone hervorzurufen. Fett scheint nicht den gleichen Einfluß auf die Elimination der Stalagmone zu haben. Im Hungerzustand tritt schon nach 16—18 Stunden eine Steigerung der Stalagmone auf, welche wahrscheinlich mit der abnormen Verbrennung des eigenen Körpereiweißes in Zusammenhang gesetzt werden kann und möglicherweise können diese Stoffe zu der Proteinsäuregruppe gerechnet werden. Sehr wahrscheinlich scheint es mir zu sein, daß diese Stoffe, wenigstens teilweise, die abnorme Herabsetzung der Oberflächenspannung bewirken, welche Schemensky bei gewissen Krankheitszuständen gefunden hat. Bei diagnostischer Ausnützung unserer Kenntnis von den Stalagmonen ist es wichtig,

sich an die sehr bedeutende Steigerung zu erinnern, welche eine unzureichende Kalorienzufuhr mit sich bringt.

Die Stalagmone, welche in Zusammenhang mit den Mahlzeiten auftreten, sind ihrer Entstehungsart und ihrer chemischen Natur nach noch schwerer zu erklären. Es liegt ja am nächsten, an Eiweißabbauprodukte aus der Nahrung zu denken, aber da müßte Eiweißkost die höchsten Werte liefern. Auch kann man an Stoffwechselprodukte, welche von der Zellarbeit des Digestionskanals stammen, denken. Wir könnten da vielleicht eine Erklärung für den Unterschied zwischen dem Fett auf der einen und den Kohlenhydraten und Eiweißstoffen auf der anderen Seite erhalten, da ja diese Nahrungsstoffe verschiedene Resorptionswege haben. Die Resorption der Kohlenhydrate und Eiweiße rufen ja eine ganz verschiedene Zelltätigkeit in der Darmwand und Leber hervor als die Fette. Einen besseren Einblick in und ein besseres Verständnis für die Bedeutung, Abstammung und die chemische Natur der Urinkolloide kann vielleicht durch fortgesetzte Versuche gewonnen werden, bei welchen auch Krankheitszustände in Betracht gezogen werden.

Literatur.

[1]) Bechhold, H., Die Kolloide in Biologie und Medizin. Dresden und Leipzig 1919. — [2]) Bechhold, H. und Reiner, L., Die Stalagmone des Harn. Biochem. Zeitschr. **108**, 98. — [3]) Donnan, T. G. und Donnan, W. D., Brit. med. journ. 1905 (dec). — [4]) Ebbecke, W., Biochem. Zeitschr. **12**, 585. — [5]) Lichtwitz, Klin. Chemie, Berlin 1918. — [6]) Lichtwitz, Zeitschr. f. physikal. Chemie **61**, 117; **64**, 144. — [7]) Morgan und Woodward, Journ. of the Amer. Chem. Soc. **35**, 1249. — [8]) Savaré, M., Hofmeisters Beiträge **9**, 401 und **11**, 71. — [9]) Schemensky, W., Biochem. Zeitschr. **105**, 229. — [10]) Sondén und Tigerstedt, Skandinav. Arch. f. Physiol. **6**, 151. — [11]) Tamaka, Arch. f. experim. Therap. u. Pharmakol. **59** (I). — [12]) Weiss, Biochem. Zeitschr. **27**, 175.

Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

MEDICAL CENTER LIB
JAN 2 1962
San Francisco, 22

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, **C. von Noorden**-Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **F. Czapek**-Leipzig, **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **J. Feigl**-Hamburg, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **H. Freundlich**-Berlin-Dahlem, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **P. Hári**-Budapest, **E. Hägglund**-Åbo, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **V. Henriques**-Kopenhagen, **R. O. Herzog**-Berlin-Dahlem, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **A. Koch**-Göttingen, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Greifswald, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molisch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **E. Münzer**-Prag, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **P. Rona**-Berlin, **H. Sachs**-Heidelberg, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **A. Scheunert**-Berlin, **A. Schloßmann**-Düsseldorf, **N. Sieber**-St. Petersburg, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Liestal, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **K. Suto**-Kanazawa, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **P. Trendelenburg**-Rostock, **O. Warburg**-Berlin, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundvierzehnter Band

Fünftes bis sechstes Heft

Ausgegeben am 28. Februar 1921

Berlin

Verlag von Julius Springer

1921

Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

U.S. MEDICAL CENTER LIB
JAN 2 1962
San Francisco, 22

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, **C. von Noorden**-Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **F. Czapek**-Leipzig, **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **J. Feigl**-Hamburg, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **H. Freundlich**-Berlin-Dahlem, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **P. Hári**-Budapest, **E. Hägglund**-Åbo, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **V. Henriques**-Kopenhagen, **R. O. Herzog**-Berlin-Dahlem, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **A. Koch**-Göttingen, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Greifswald, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molisch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **E. Münzer**-Prag, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **P. Rona**-Berlin, **H. Sachs**-Heidelberg, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **A. Scheunert**-Berlin, **A. Schloßmann**-Düsseldorf, **N. Sieber**-St. Petersburg, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Liestal, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **K. Suto**-Kanazawa, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **P. Trendelenburg**-Rostock, **O. Warburg**-Berlin, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundvierzehnter Band

Fünftes bis sechstes Heft

Ausgegeben am 28. Februar 1921

Berlin

Verlag von Julius Springer

1921

Die **Biochemische Zeitschrift**

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 48.—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1¹/₂ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens 2 Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Redakteur,

Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 15,

zu richten.

Die Verfasser erhalten 60 Sonderabdrücke ihrer Abhandlungen kostenfrei, weitere gegen Berechnung. Für den 16 seitigen Druckbogen wird ein Honorar von M. 40.— gezahlt.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

114. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 5./6. Heft.

Seite

Bau, Arminius. Die Bestimmung der Oxalsäure und der Oxalursäure im Harn und im Kot 221

Ruß, V. K. und **E. Oesterlin.** Studien über die Phyto-Hämagglutinine 258

v. Euler, H., I. Laurin und **A. Pettersson.** Anpassung einer Oberhefe an das Gärsubstrat Galaktose 277

Kießling, Werner. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens am isolierten Froschherzen 292

Iversen, Poul. Untersuchungen über die Verteilung der Phosphate zwischen Blutkörperchen und Plasma innerhalb und außerhalb des Organismus 297

Falta, W. und **M. Richter-Quittner.** Studien über die Faserstoffgerinnung. II. Über das „gebundene" Chlor im Blute 310

Autorenverzeichnis 318

Die Bestimmung der Oxalsäure und der Oxalursäure im Harn und im Kot.

Von

Arminius Bau (Bremen).

(Eingegangen am 4. Dezember 1920.)

Inhaltsübersicht.

I. Allgemeiner Teil. S. 221.
II. Spezieller Teil. S. 231.
1. Die Bestimmung der Oxalsäure im normalen Harn. S. 231.
2. Die Bestimmung der Oxalsäure im diabetischen Harn. S. 237.
3. Die Bestimmung der Oxalsäure im Eiweißharn. S. 237.
4. Die Bestimmung der Oxalursäure. S. 238.
5. Vergleich des Kalkessigverfahrens mit früheren Methoden zur Bestimmung der Oxalsäure. S. 243.
6. Die Bestimmung der Oxalsäure in den Faeces. S. 246.
III. Tabellen. S. 254.
IV. Nachtrag. S. 255.

I. Allgemeiner Teil.

Bei meinen Studien über die Bestimmung der Oxalsäure im Bier[1]) zog ich als Vergleichsmaterial auch den Harn heran und fand, daß die bisher gebräuchliche Methode nach E. Salkowski[2]) Ausschütteln des unter Zusatz von Salzsäure mehr oder minder eingedampften Harns mittels Äther, zu niedrige Werte ergibt. Ich komme auf diesen Punkt weiter unten zurück und gebe zunächst der Entwicklung und Beschreibung der von mir „Kalkessigverfahren" genannten Bestimmung der Oxalsäure an der Hand früherer Veröffentlichungen in der Zeitschrift „Die dtsch. Essigindustrie"[3]) und der „Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel"[4]) hier wieder.

[1]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **35**, 31. 1918; **36**, 285. 1919.

[2]) E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie **29**, 437. 1900 und bei C. Neuberg, Der Harn, Berlin 1911, S. 273.

[3]) A. Bau, Deutsche Essigindustrie **23**, 358. 1919.

[4]) A. Bau, Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel **40**, 50. 1920.

Für die qualitative Prüfung von Wein auf Oxalsäure hatten Hans Kreis und W. J. Baragiola[1]) das im Schweizerischen Lebensmittelbuche (3. Auflage, S. 31) angegebene Verfahren dahin abgeändert, daß 50 ccm Wein mit 2—3 ccm einer 5proz. Calciumchloridlösung und Ammoniak bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt werden. Dann wird sofort unter beständigem Sieden mit 50proz. Essigsäure schwach angesäuert. Noch etwas schärfer wird der Nachweis, wenn man in Anlehnung an das Verfahren von Fonzes-Diacon 50 ccm Wein in der Kälte mit 2,5 ccm 5proz. Calciumchloridlösung (aus wasserfreiem Calciumchlorid hergestellt), 2,5 ccm Eisessig, 5 ccm einer kaltgesättigten Natriumacetatlösung versetzt, und 24 Stunden stehenläßt.

Da das sogenannte wasserfreie Calciumchlorid stets wechselnde Mengen Wasser enthält, setzte A. A. Besson[2]) an dessen Stelle das stets gleichmäßig zusammengesetzte krystallisierte Calciumchlorid, welches er nun in 10proz. Lösung gebrauchte, und außerdem mischte er vorher die einzelnen Bestandteile, ließ die Mischung stehen und filtrierte sie, bevor sie in der Menge von 10 ccm zu 50 ccm Wein zugegeben wurde. A. A. Besson hatte erkannt, daß das essigsaure Natrium stets Spuren von Oxalsäure enthält, deshalb ist ein vorheriges Mischen der einzelnen Bestandteile (Calciumchlorid-, Natriumacetatlösung und 50proz. Essigsäure), Stehenlassen und Filtrieren nötig, um die vorgebildete Oxalsäure abzuscheiden.

Diese Methode des qualitativen Nachweises prüfte ich in bezug auf ihre Brauchbarkeit zur quantitativen Bestimmung der Oxalsäure und nannte das zur Anwendung gelangende Fällungsmittel Kalkessig. Die Begründung und die ausführlichen Untersuchungen über das Kalkessigverfahren sind an anderer Stelle[3]) niedergelegt.

Darstellung des Kalkessigs: Je 500 ccm a) einer in der Wärme hergestellten, nach dem Abkühlen nötigenfalls filtrierten Lösung von 330 g krystallisiertem Natriumacetat und 300 ccm Wasser, und b) einer Auflösung von 25 g krystallisiertem Calciumchlorid in 50proz. Essigsäure, welche Lösung mit letzterer Säure in einem $^1/_2$ Ltr.-Meßkolben bis zur Marke angefüllt war, werden vermischt, 48 Stunden in einen kalten Raum bei einer 7° möglichst nicht übersteigenden Temperatur, z. B. in den Eisschrank, gestellt und sodann durch ein Filter (Schleicher & Schüll Nr. 602 „hart") filtriert. Spuren von Oxalsäure, welche etwa in dem Natriumacetat vorhanden sind, scheiden sich hierbei als Kalksalz aus; sie sind

[1]) H. Kreis und W. J. Baragiola, Schweizerische Apotheker-Ztg. 1915, Nr. 29, Sonderabdruck, S. 3.

[2]) A. A. Besson, Chem.-Ztg. **41**, 642. 1917.

[3]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **38**, 31. 1918 und **39**, 285. 1919.

unschädlich, da Calciumoxalat in dem unverdünnten Kalkessig vollkommen unlöslich ist.

Auf Vorrat hergestellter Kalkessig wird in nur lose verschlossener Flasche aufbewahrt, es kann vorkommen, daß er nochmals eine geringere Menge eines Bodenkörpers absetzt; dies tritt ein, wenn die angewandte 50proz. Essigsäure Glyoxylsäure enthält, welche sich allmählich bei Luftzutritt zu Oxalsäure oxydiert. Letztere wird aber restlos als Kalksalz abgeschieden. Der Kalkessig wird in diesem Fall kurz vor dem Gebrauch filtriert.

Zur Abscheidung der Oxalsäure wird eine bestimmte Menge der nötigenfalls klar filtrierten Flüssigkeit, welche höchstens 0,2% Oxalsäure enthalten darf, in der Kälte mit dem fünften Teil ihres Volumens Kalkessig vermischt, 38—44 Stunden in einem kühlen Raum bei einer 7° möglichst nicht übersteigenden Temperatur aufbewahrt und durch ein Filter (Schleicher & Schüll Nr. 589 „Blauband" von 9 cm Durchmesser) filtriert. Nachdem die Lösung abfiltriert ist, wechseln wir das Auffanggefäß, spritzen nun den Niederschlag auf das Filter, und waschen dieses bis zum Verschwinden der Chlorreaktion, auf welche durch mit Salpetersäure stark versetztes Silbernitrat zu prüfen ist, mit kaltem Wasser aus. Dieses zweite Filtrat, welches ich „Waschwasser" nenne, wird in einem graduierten Zylinder gemessen.

Die Prüfung des Auswaschens geschieht am besten so, daß man in einem mit entsprechender Marke versehenen Reagensglase 5 ccm des „Waschwassers" auffängt und mit einem Tropfen angesäuerter Silbernitratlösung versetzt. Die Anzahl der durch diese Proben verbrauchten Mengen Waschwasser rechnet man zu der im graduierten Zylinder abgemessenen Menge hinzu.

Das Filter mit dem Niederschlag wird in einem gewogenen Platintiegel verascht, vor dem Gebläse geglüht, gewogen, die Asche in einer gemessenen Menge $^n/_{10}$-Salzsäure gelöst, die Lösung mit einem oder zwei Tropfen Methylorange versetzt und mit $^n/_{10}$-Natronlauge zurücktitriert. Die zum Titrieren benutzte Bürette soll in 0,05 ccm geteilt sein. Durch Abzug der ccm $^n/_{10}$-Lauge von den angewandten ccm $^n/_{10}$-Säure erhält man die Menge Säure, welche zum Neutralisieren des aus dem Calciumoxalat durch Glühen entstandenen Calciumoxydes nötig ist.

Um das letztere schneller in der Säure zu lösen, fügt man aus der Bürette, deren Flüssigkeitsstand man notiert, zu der geglühten

und wieder erkalteten Filterasche — je nach deren Menge — zunächst einen, zwei oder drei Tropfen $^n/_{10}$-Säure und zerreibt das Calciumchlorid mittels eines am Ende gut rund geschmolzenen Glasstabes zu einem zarten Brei, läßt erst dann etwas mehr als die berechnete Menge (2,8 mg CaO entsprechen 1 ccm $^n/_{10}$-Säure) Säure hinzufließen und rührt bis zur vollständigen Lösung des Calciumoxydes. Beträgt dessen Menge nicht mehr als 20 mg, so läßt sich das Titrieren im Platintiegel gewöhnlicher Größe zu Ende führen; ist aber die Menge größer, so muß man den Tiegelinhalt, nachdem man nur einen Teil der zum Lösen nötigen Menge $^n/_{10}$-Säure zugefügt hat, in ein Becherglas spritzen, in welchem das Lösen und die Titration zu Ende geführt wird. Aus den erhaltenen Zahlen läßt sich die vorhandene Menge Oxalsäure berechnen.

Aus manchen organischen Lösungen reißt der Niederschlag des Calciumoxalats gewisse Stoffe nieder, welche nach dem Glühen in der Säure unlöslich sind. Es bleiben dann selbst nach längerem Rühren kleine Teile in der Säure suspendiert. Dieser Fall kann auch bei der Essiguntersuchung eintreten, wenn der Niederschlag durch Calciumsulfat verunreinigt ist. Die Erkennung, ob alles Calciumoxyd gelöst ist, geschieht dann in der Weise, daß man die fertig titrierte Lösung mit einem Tropfen $^n/_{10}$-Säure versetzt und sie mehrere Stunden stehenläßt. Die Farbe muß nach dieser Zeit noch rötlich sein; ist die Lösung rein gelb geworden, so war noch Calciumoxyd vorhanden. Man fügt dann von neuem eine gemessene Menge $^n/_{10}$-Säure hinzu und titriert nach einiger Zeit mit $^n/_{10}$-Natronlauge zurück.

Das Calciumoxalat ist in dem unverdünnten Kalkessig vollständig unlöslich, in dem verdünnten Kalkessig ist es aber bereits merklich löslich. Zur Fällung der Oxalsäure fügen wir zu der abgemessenen Lösung $^1/_5$ ihres Volumens Kalkessig. Ein Liter eines mit dem fünften Teil seines Volumens Kalkessig versetzten Gemisches aus destilliertem Wasser, ferner aus Bier, Bierwürze oder Harn hält 3,42 mg Oxalsäure oder 3,34 mg Oxalation (C_3O_4'') in Lösung; auch für andere Gemische nehmen wir den gleichen Faktor an. Wird der Niederschlag abfiltriert, so ist die Menge dieses Filtrates bekannt, da wir ja eine abgemessene Menge Flüssigkeit mit ihrem fünften Teil Kalkessig versetzt haben. Wir können demnach aus der Menge des Filtrates die durch dieses in

Lösung gehaltene Menge Oxalsäure berechnen. Nachdem wir das Auffanggefäß gewechselt und den Niederschlag auf das Filter gespritzt haben, waschen wir ihn mit kaltem Wasser aus. In diesem ist das Calciumoxalat in einem anderen Verhältnis löslich als in dem 1:5 verdünnten Kalkessig, und zwar hält 1 Liter 4,64 mg Oxalsäure oder 4,54 mg Oxalation in Lösung.

Nachdem das Filter mit dem Niederschlag verascht und geglüht ist, könnte man aus dem Gewicht des Calciumoxyds die vorher vorhandene Oxalsäure berechnen, indessen ist zu beachten, daß das aus Flüssigkeiten organischer Natur gefällte Calciumoxalat nie rein ist, sondern in Spuren noch glühbeständige andere Elemente enthalten kann; so wurden in dem geglühten Kalk noch Eisen, Mangan, Silicium (als Kieselsäure), und ferner bei der Fällung von Essig Calciumsulfat aufgefunden. Außerdem lassen sich beim Glühen des oxalsauren bzw. des kohlensauren Calciums die letzten Spuren Kohlensäure nur schwierig und unsicher vertreiben; endlich ist das Calciumoxyd selbst hygroskopisch[1]), so daß aus allen diesen Gründen die Berechnung der Oxalsäure aus dem Calciumoxyd nicht genau ist. Deshalb müssen wir das letztere durch Titrieren mittels $^n/_{10}$-Säure bestimmen. Nehmen wir als Wägefehler nur 0,2 mg an, so beträgt der Rechnungsfehler 0,32 mg Oxalsäure; ist der Fehler beim Titrieren 0,03 ccm, welchen wir aber bei einer in 0,05 ccm geteilten Bürette und beim sorgfältigen Arbeiten in dieser Höhe nicht begehen, so berechnet sich der Unterschied auf 0,13 mg Oxalsäure.

Für die Bestimmung der Oxalsäure haben wir folgende Konstanten:

1 ccm $^n/_{10}$-Säure entspricht . . . . 4,50 mg Oxalsäure (wasserfrei),
1 Liter Filtrat hält in Lösung . . 3,42 „ „ „
1 „ Waschwasser hält in Lösung 4,64 „ „ „

Da aber freie Oxalsäure selbst im Rhabarbersaft nicht vorkommt[2]) und auch in anderen Pflanzenstoffen, im Bier, Harn und in den Faeces nicht gegenwärtig ist, erscheint es gegenüber meinen früheren Veröffentlichungen besser, die Konstanten auf Oxalation (C_2O_4'') einzustellen. Wir erhalten somit:

[1]) Vgl. R. Fresenius in einer Anmerkung zu der Arbeit von Aug. Souchay, Zeitschr. f. analyt. Chem. **10**, 323. 1871 und O. Brunck, daselbst **45**, 77—87. 1906.

[2]) Vgl. A. A. Besson, Chem.-Ztg. **42**, 527. 1918.

1 ccm $^n/_{10}$-Säure	4,40	mg Oxalation
1 Liter Filtrat hält in Lösung	3,34	„ „
1 „ Waschwasser hält in Lösung .	4,54	„ „

Die Berechnung geschieht nach folgendem Beispiel:
Es gaben 200 ccm Bier, mit 40 ccm Kalkessig gefällt:

0,8 mg Glührückstand = 0,10 ccm $^n/_{10}$-Säure .	= 0,44	mg Oxalation
240 ccm Filtrat	= 0,80	„ „
115 ccm Waschwasser	= 0,52	„ „
also in 200 ccm Bier	= 1,76	mg Oxalation.

Um das jedesmalige Ausrechnen der von den wechselnden Mengen des Filtrats und des Waschwassers zurückgehaltenen Mengen an Oxalation zu ersparen, gebe ich am Schluß dieses Artikels zwei Tabellen für die in Betracht kommenden Flüssigkeitsmengen.

Wenn nicht Lösungen, wie Bier oder Harn, vorliegen, sondern mehr oder weniger feste Stoffe, so muß aus diesen die Oxalsäure zunächst ausgezogen werden. Die Grenze zwischen wasserlöslicher und wasserunlöslicher Oxalsäure ist aber keine scharfe, denn selbst das Calciumoxalat (abgesehen von anderen beispielsweise im Rhabarber und Sauerklee vorhandenen oxalsauren Salzen) ist in reinstem destillierten Wasser nicht unlöslich; seine Löslichkeit wird durch bestimmte Salze und organische Verbindungen noch erhöht.

Immerhin gewährt es z. B. für Gemüse einen ungefähren Anhaltspunkt für die Bekömmlichkeit, zu wissen, wieviel wasserlösliche Oxalsäure in diesem vorhanden ist, wenn wir uns auch nicht verhehlen dürfen, daß sogar die wasserunlösliche Oxalsäure infolge des Gehalts des Magensaftes an Salzsäure teilweise löslich wird. Die in einigen Fällen beobachtete Vergiftung durch Rhabarber[1]) ist vielleicht mitbedingt durch einen zufällig hohen Gehalt des Magensaftes an Salzsäure.

Am einfachsten erscheint es, die Oxalsäure durch Kochen der Substanz mit Wasser oder verdünnter Salzsäure in Lösung zu bringen, doch werden durch dieses Verfahren außerdem so viel fremde Stoffe gelöst, welche die Abscheidung der Oxalsäure erschweren, daß ich es nach meinen vielfachen Versuchen für ein-

[1]) Mein Gewährsmann ist der verstorbene Dr. med. Degener, doch beobachtete ich selbst bei einem Bekannten eine schwere akute Vergiftung durch Rhabarbergenuß, während die übrigen Teilnehmer an dem gemeinsamen Essen gesund blieben.

wandfreier finde, den Untersuchungsgegenstand mit kaltem Wasser bzw. kalter verdünnter Salzsäure zu behandeln. Bei Stoffen, welche viel Stärke enthalten, ist zudem ein Kochen aus dem Grunde nicht möglich, weil man dann filtrierbare Lösungen nicht erhält. In Ausnahmefällen, zur Prüfung des Verfahrens, habe ich allerdings auch den Kochprozeß mit Salzsäure selbst bei Körnerfrüchten angewandt.

Bei Substanzen, welche Oxalursäure enthalten (vielleicht Faeces), ist ein Kochen mit Salzsäure auch aus dem Grunde nicht angebracht, weil die Oxalursäure dann gespalten wird und die Oxalsäuremenge erhöhen würde.

Stoffe, welche Fette oder Harze enthalten, so manche Faeces, Ölpreßkuchen, Hopfen, Blätter bzw. Nadeln von Koniferen usw., sind vorher vom Fett oder Harz durch Extraktion mittels Äther oder Tetrachlorkohlenstoff zu befreien. Da die Oxalsäure nie in freiem Zustand in diesen Produkten vorkommt, wie ich durch eigene Untersuchungen feststellte, ist also ein Verlust an Oxalsäure durch die Entfettung oder Entharzung nicht zu befürchten[1]).

Betreffs der genauen Bestimmung der Oxalsäure haben wir vorweg noch folgende Gesichtspunkte zu beobachten:

1. Bei der Herstellung wässeriger Lösungen können Mikroorganismen schädlich wirken, einesteils durch Spaltung der Oxalsäure (Assimilation?), anderenteils (selten) durch Neubildung dieser Säure infolge von Schimmelpilzvegetationen. Dieser Einfluß von Mikroben bei der Herstellung von Lösungen aus den Untersuchungsobjekten wird durch Zusatz von Toluol und anderen antiseptischen Mitteln aufgehoben.

2. Ein Verschwinden des Oxalations kann eintreten a) durch Einwirkung von Licht. Allzu ängstlich braucht man in dieser Beziehung aber nicht zu sein, denn die gelbe oder gelbbräunliche Farbe der Lösungen schützt die Oxalsäure vor der Zerstörung durch zerstreutes Tageslicht[2]). Selbstverständlich wird man die Lösungen aber nicht unnötig im direkten Sonnenlicht stehenlassen. b) Durch die Einwirkung von Eisensalzen zumal in saurer Lösung bei Gegenwart von Luftsauerstoff[3]) und c) durch die Tätigkeit eines in allen Pflanzen vorhandenen, Oxalate spaltenden Enzyms,

[1]) Siehe Nachtrag.

[2]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **37**, 209. 1920.

[3]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **36**, 311. 1919.

welches nur in Gegenwart von Sauerstoff wirksam ist[1]). Gegen die unter 2b und 2c genannten schädigenden Einflüsse schützt man sich durch Arbeiten in einer Kohlensäureatmosphäre beim Ausziehen der Oxalsäure aus den Untersuchungsobjekten. Es ist zu betonen, daß beim Verarbeiten von frischen Pflanzenstoffen, beim Zerkleinern oder beim Trocknen, besonders bei erhöhter Temperatur, das Enzym seine Tätigkeit fortsetzt und die löslichen Oxalate zerstört, so daß zuweilen überhaupt keine Oxalate mehr festgestellt werden können[1]). In alten getrockneten Pflanzen fehlt das Enzym[2]).

3. Eine Verminderung oder ein vollständiges Verschwinden der Oxalsäure kann durch Anwendung von Tierkohle zum Klären der Flüssigkeiten zumal in neutraler Lösung eintreten, da diese infolge ihres Gehaltes an Calciumphosphat Oxalsäure bindet. Die Anwendung von Tierkohle ist also zu vermeiden[3]).

4. Schwefelsaure Salze in starker Konzentration verhindern die restlose Abscheidung von Calciumoxalat[4]).

5. Das gleiche ist der Fall bei der Anwesenheit größerer Mengen von Magnesiumsalzen. Bei der Untersuchung natürlicher Pflanzenstoffe liegt eine Gefahr bei der Oxalsäurebestimmung indessen in dieser Hinsicht nicht vor, — vielleicht mit Ausnahme bei der Prüfung von Tabak, bei welcher man stärker verdünnte Lösungen in Behandlung nehmen soll[5]).

6. Die Gegenwart von Phosphorsäure ist (bei Abwesenheit von Eisen) unschädlich, wenn man nicht aus dem gewogenen Glührückstand die Menge des Oxalations feststellt, sondern letztere aus den zur Titration des Glührückstandes verbrauchten ccm $^{n}/_{10}$-Säure berechnet[6]).

7. In Gegenwart von Eisenverbindungen würde Phosphorsäure schädlich wirken, jedoch gelingt die Verhinderung der Ausscheidung von Eisenphosphat durch Beigabe von Citronensäure oder Ammoniumcitrat[6]).

8. Indessen ist ein zu großer Zusatz von Citronensäure zu ver-

---

[1]) M. Staehelin, diese Zeitschr. **96**, 1 und 13. 1919.
[2]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **37**, 209. 1920.
[3]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **36**, 312. 1919.
[4]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **36**, 320, 327. 1919.
[5]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **36**, 328. 1919.
[6]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **36**, 337. 1919.

meiden; im höchsten Fall darf die Lösung 1% Citronensäure ($C_3H_4(OH)(CO_2H)_3 + H_2O$) auch in Form ihrer Salze enthalten[1]).

9. Die Anwesenheit von Weinsäure (in manchen Pflanzenstoffen, in mit Weinsäure konservierten Fruchtsäften und Marmeladen) beeinträchtigt die Bestimmung der Oxalsäure. Man vermeidet ihren Einfluß durch Beigabe von Borsäure, von welcher $^1/_4$ Mol der vorhandenen Weinsäure genügt, während selbst ein großer Überschuß an Borsäure nicht schadet[2]).

10. Die Gegenwart von größeren Mengen Mangansalzen (z. B. in Rhabarberblättern) wirkt insofern störend, als bekanntlich Manganverbindungen mit dem Calciumoxalatniederschlag mitgerissen werden. Ein Titrieren des nunmehr braun gefärbten Glührückstandes mit $^n/_{10}$-Salzsäure ist ungenau, da sich Spuren von Chlor bilden, deshalb muß man in diesem Fall $^n/_{10}$-Salpetersäure anwenden[3]).

11. Bei dem Ausziehen der Oxalsäure aus manchen Pflanzenstoffen und Faeces erhält man Lösungen, welche insofern nicht direkt mit Kalkessig fällbar sind, als durch dieses Reagens viel schleimige und andere Stoffe mit niedergerissen werden. In diesem Falle muß man die Flüssigkeit durch Aussalzen mit Ammoniumchlorid in stark salzsaurer Lösung reinigen. Man kocht 200 ccm bzw. eine andere Menge mit 15 ccm Salzsäure (D = 1,124) in einem bei 50 ccm Inhalt mit Marke versehenen Becherglas auf 50 ccm ein, fügt 13 g absolut reines Ammoniumchlorid hinzu, läßt die Flüssigkeit im Kühlraum mindestens 12 Stunden stehen, filtriert in ein bei 200 ccm Inhalt mit Marke versehenes Becherglas und wäscht den Niederschlag mit gesättigter Ammoniumchloridlösung aus. Sollten sich starke Krystallisationen von Ammoniumchlorid gebildet haben, so kann man diese mit wenig destilliertem Wasser auf das Filter spritzen. Man wäscht mit gesättigter Ammoniumchloridlösung so lange nach, bis annähernd 180 ccm Filtrat erzielt sind, neutralisiert aus der Bürette mit Ammoniak, ergänzt das Filtrat mit destilliertem Wasser auf 200 ccm, fügt nochmals 50 ccm destilliertes Wasser hinzu und fällt mit 50 ccm Kalkessig.

Ist die Lösung nicht stark salzsauer (Bindung der Salzsäure durch die Basen der Pflanzenstoffe und der Faeces), so findet man

[1]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **36**, 338. 1919.
[2]) A. Bau, Chem.-Ztg. **42**, 425. 1918.
[3]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **36**, 321. 1919.

zu wenig Oxalation, da etwas Calciumoxalat durch das Ammoniumchlorid mit ausgesalzen werden kann[1]).

12. Bei der Bestimmung der gesamten Oxalsäure zieht man die Substanz mittels verdünnter Salzsäure aus. Es ist zu bemerken, daß sich das Calciumoxalat nur in einem Überschuß von Säure löst; von verdünnter Salzsäure werden je nach dem Konzentrationsgrade nur 8—10% der theoretischen Menge in Lösung gebracht[2]).

13. Ein restloses Ausziehen der Oxalsäure aus Pflanzen- und anderen Stoffen ist nicht möglich, weil einesteils die Lösungen zu verdünnt, andernteils zu stark mit fremden Stoffen verunreinigt würden. Man digeriert daher eine abgewogene Menge der auf ihren Wassergehalt untersuchten Substanz mit einer bestimmten Menge Wasser bzw. verdünnter Salzsäure und berechnet die gefundenen Werte nach der Proportionalitätsmethode. In zahlreichen Fällen, auch bei der Untersuchung der nur schwierig zu prüfenden Faeces, habe ich dieses Verfahren bewährt gefunden. Die nachfolgenden Beispiele sind gleichfalls ein Beweis für die Zuverlässigkeit der Methode.

14. Das durch Kalkessig ausgeschiedene Calciumoxalat zeigt nicht immer die als typisch angesehene Briefkuvertform, es treten vielmehr recht häufig andere Krystallgebilde auf, welche eher mit Mikroorganismen als mit Krystallformen Ähnlichkeit haben.

An der Hand vorzüglicher Bilder in 1000facher Vergrößerung von Paul Lindner, Berlin, habe ich die beobachteten Formen in der Abhandlung „Auffallende Ähnlichkeiten in der Form bei Krystallen und Mikroben" besprochen[3]). Nachträglich sah ich noch eine besondere Form des Calciumoxalats, aus Büscheln zarter, federförmiger Krystalle bestehend. Ich erhielt diese Krystalle zuweilen aus der nach A. Junk mit metallischem Quecksilber sterilisierten $^n/_{100}$-Oxalsäurelösung[4]). Eines dieser Bilder hielt ebenfalls Paul Lindner[5]) fest. Auffallenderweise erhielt ich die gleiche Form aus einer Abkochung von 50 g Tee, welche ich mit Calciumchlorid fällte. Nach dem gründlichen Auswaschen des Niederschlages wurde letzterer in Salzsäure gelöst und ausgeäthert. Der abgedampfte Ätherrückstand wurde in Wasser gelöst, nach dem Filtrieren mit Kalkessig gefällt, der entstandene Niederschlag mit Salzsäure aufgenommen, nochmals ausgeäthert, eingedampft, in Wasser gelöst und wiederum mit Kalk-

[1]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **36**, 327—329. 1919.
[2]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **36**, 309. 1919.
[3]) A. Bau, Zeitschr. f. technische Biologie **7**, 203. 1919.
[4]) A. Junk, Chem.-Ztg. **43**, 258. 1919.
[5]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **37**, 219. 1920.

essig gefällt. Die Briefkuvertform zeigte sich in dem Niederschlag nicht; dagegen waren zahlreiche zu Büscheln gruppierte, federförmige Krystalle entstanden, welche mit denen in der letzthin erwähnten Abbildung große Ähnlichkeiten zeigten.

II. Spezieller Teil.

1. Die Bestimmung der Oxalsäure im Harn.

Eine abgemessene Menge des klar filtrierten Harns wird mit $^1/_5$ seines Volumens „Kalkessig" versetzt, 38—44 Stunden in den Kühlraum gestellt und nach den im allgemeinen Teil angegebenen Bedingungen filtriert. Der ausgewaschene Niederschlag wird verascht, geglüht, gewogen und mit $^n/_{10}$-Salzsäure titriert.

Beispiel: Es ergaben 400 ccm Harn vom spez. Gew. 1012,9 einen Glührückstand von 2,8 mg = 0,75 ccm $^n/_{10}$-Säure = 3,30 mg Oxalation
das Filtrat betrug 480 ccm . . . . . = 1,60 „ „
das Waschwasser betrug 150 ccm . . . . . = 0,68 „ „
zusammen = 5,58 mg Oxalation
oder im Liter 13,95 mg Oxalation.

Um zu prüfen, wie sich die Oxalsäure beim längeren Stehen des Harns verhält, wurden mehrere Dauerversuche angestellt, bei denen der Harn in Flaschen — teils mit Watteverschluß, um einen allmählichen Zutritt des Luftsauerstoffs zu ermöglichen, teils in solchen mit Patentverschluß zum Abschluß der Luft — sterilisiert war.

Die mit Harn, dessen spez. Gew. bestimmt war, gefüllten Flaschen wurden vor dem Sterilisieren gewogen. Nach dem Ablauf der Beobachtungszeit wurde das Gewicht der Flasche und das spez. Gew. des Harns erneut festgestellt, da bei den mit Watteverschluß versehenen Flaschen ja Verdunstung und somit eine Konzentration der Flüssigkeit eintrat, dann die Oxalsäure bestimmt und unter Berücksichtigung der Volumenverminderung auf die ursprünglich angewandte Menge berechnet.

Bei den von mir in Arbeit genommenen Harnen schieden diese auch bei langem Stehen keine Oxalatkrystalle ab. Das ist natürlich Zufallssache, da sonst häufig der Harn beim Stehen Krystalle des oxalsauren Kalkes absetzt. Dagegen entstanden in den mit Watteverschluß versehenen Flaschen, durch die Verdunstung bedingt, sechsseitige Krystalle, welche ich, da ich zunächst nur Spuren derselben erhielt, für cystinähnlich hielt, die aber, als ich sie in größerer Menge gewann, von Herrn Prof. Dr.

C. Neuberg[1]) als phosphorsaure Ammoniakmagnesia mit geringen organischen Verunreinigungen erkannt wurde.

Vergleichsweise unterzog ich Bierwürze, welche noch nicht vergoren war, derselben Prüfung. Während die Harne, wie bereits erwähnt, zufälligerweise keine Oxalate absetzten, trat dieser Umstand bei der Bierwürze in erheblichem Maßstabe ein. Da sich manche Harne so ähnlich verhalten können, schildere ich den etwas schwierigeren Analysengang bei der Bierwürze.

Es lieferten 300 ccm der sterilisierten Bierwürze mit 11,70% Extrakt frisch untersucht 11,52 mg Oxalation.

Nach $7^2/_3$ Monaten wurde eine der sterilisierten Flaschen, die einen Bodenkörper abgesetzt hatte, geöffnet.

Der Extraktgehalt betrug	11,85%
das Gewicht der Flasche war brutto	981,20 g
Tara	543,65 g
Also Inhalt netto	437,55 g

Der Inhalt wurde durch ein Filter Schleicher & Schüll Nr. 589 „Blauband" filtriert und von dem Filtrat 300 ccm zur Oxalsäurebestimmung verwandt.

Die Flasche spülte man mehrmals mit destilliertem Wasser aus, welches man durch das gleiche Filter durchlaufen ließ. Das Filter wurde mit einer Glasplatte abgedeckt und beiseite gestellt.

In die Flasche gab man zur Lösung des Bodensatzes, der — bei gehopfter Bierwürze — neben Oxalatkrystallen auch Hopfenharz und Eiweißkörper enthielt, 10 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge, ließ unter zeitweiligem Umschwenken eine Stunde (bei anderen Versuchen bis zu 3 Stunden) stehen, goß die Lösung in ein kleines Becherglas und spülte die Flasche dreimal mit wenig dest. Wasser nach, welches selbstverständlich in das gleiche Becherglas kam. Darauf ließ man in die Flasche 10 ccm $^n/_{10}$-Salzsäure zur Lösung der an der Glaswandung haftenden Oxalatkrystalle einlaufen. Nach drei Stunden wurde die Lösung in das erwähnte Becherglas gegeben, die Flasche dreimal mit dest. Wasser nachgespült und schließlich die zusammengegossenen Flüssigkeiten mit Kalkessig gefällt.

Man erhielt nach der Kalkessigmethode 13,71 mg Oxalation, welche aus 437,55 g digerierter Bierwürze stammten. Das spez. Gew. der letzteren betrug $S\frac{20°}{4} = 1{,}04583$, das Volumen somit rund 418,5 ccm. Demnach ergibt sich für 300 ccm = 9,83 mg.

Die 300 ccm sogleich filtrierter Bierwürze gaben	2,12 mg Oxalation,
der auf 300 ccm berechnete Rückstand	9,83 „ „
zusammen	11,95 mg Oxalation.

Diese Zahl muß noch auf die ursprüngliche Konzentration der Bierwürze reduziert werden, da in der Flasche mit Watteverschluß ja eine Verdunstung eintrat. Die Bierwürze hatte ursprünglich 11,70% Extrakt,

[1]) C. Neuberg, Private Mitteilung.

Tabelle I.

Nr. d. Versuche	Harn	Datum der Untersuchung	Aufbewahrungsort des sterilisierten Harns	Angewandte Menge ccm	Zeit nach dem Sterilisieren	Gefunden Oxalation, berechnet auf die ursprüngliche Konzentration mg
1	Nr. I männlicher D 1018,0 stark sauer	5. IV. 19	—	400	2 Tage	6,17
2		30. X. 19	In Flasche mit Patentverschluß, im Dunkelraum.	400	6½ Monat	7,05
3		1. XI. 19	In Flasche mit Watteverschluß, im Dunkelraum.	400	6½ Monat	7,08
4		30. VI. 20	Blieb in Flasche mit Patentverschluß im Dunkelraum bis zum 1. XI. 1919 stehen, dann wurde ein Watteverschluß aufgesetzt, und die Flasche kam in das zerstreute Tageslicht an einem nach Norden zu gelegenen Fenster.	800 hier berechnet für 400	14½ Monat	12,04
5	Nr. II weiblicher D = 1022,11 schw. sauer	1. XI. 19	—	400	1 Tag	12,61
6		14. V. 20	In Flasche mit Watteverschluß im zerstreuten Tageslicht.	400	6½ Monat	11,46
7		30. VI. 20	Ebenso.	200 hier berechnet für 400	8 Mbnate	11,42
8		31. V. 20	Derselbe Harn, nicht sterilisiert, mit in Alkohol gelöster Benzoesäure (1,5 g) versetzt, nach der Digestion auf das vorher festgestellte Gewicht mit dest. Wasser aufgefüllt. Die Lösung, 400 ccm, stand in einem mit Glasplatte bedeckten Becherglas im zerstreuten Tageslicht.	400	7 Monate	13,24
9	Nr. III männlicher D = 1017,7 sauer	8. XI. 19	—	300	sofort nach d. Sterilisieren	6,28
10		8. XII. 20	Sterilisiert und in Flaschen mit Watteverschluß im zerstreuten Tageslicht aufbewahrt.	300	1 Monat	6,29
11		8. III. 20	Ebenso	300	4 Monate	6,66
12		5. V. 20	„	300	6 Monate	6,70
13		30. VI. 20	„	300	7½ Monat	8,31
14		11. XI. 20	„	300	12 Monate	9,42

nach $7^2/_3$ Monaten 11,85, sie war also konzentrierter geworden. Wir berechnen somit auf die ursprüngliche Konzentration für 300 ccm 11,8 mg Oxalation. Gegenüber der frisch sterilisierten Bierwürze mit 11,52 mg Oxalation bei exakter Arbeit also eine sehr gute Übereinstimmung.

Die verschiedenen von mir untersuchten normalen Harne, die nun allerdings nicht frisch gelassen, sondern, um die nötige Menge zu haben, gesammelt waren, ergaben folgende Werte (s. Tabelle I):

In allen Fällen hatte sich bei den Proben, welche längere Zeit in Flaschen mit Watteverschluß standen, neben Krystallen des phosphorsauren Ammoniakmagnesiums auch Harnsäure abgeschieden. Daß diese, ebenso wie Hippursäure (im Harn von Pflanzenfressern), auf die Bestimmung der Oxalsäure einen Einfluß nicht ausübt, wies ich früher nach[1]). Um die Zahlen richtig bewerten zu können, müssen wir die Frage nach dem möglichen analytischen Fehler bei dem Kalkessigverfahren stellen. Als Lösungsfaktor für das Calciumoxalat in der gefällten Flüssigkeit („Filtrat") ist 3,34 mg Oxalation im Liter angenommen. Bei verschiedenartig zusammengesetzten Lösungen dürfte diese Zahl sich um ein geringes ändern, so, wenn aus demselben Harn sich bei langem Stehen feste Stoffe (besonders Magnesiasalze, welche die Löslichkeit des Calciumoxalates beeinflussen) abscheiden. Zwar ist in jedem Einzelfall, wie ich früher erwähnte[2]), die Möglichkeit gegeben, durch Differenzanalyse der ursprünglichen und der vorsichtig eingedampften, gegebenenfalls aber mit Wasser verdünnten Lösung den jeweiligen Löslichkeitsfaktor zu bestimmen, doch verzichtete ich auf die etwas umständliche Prüfung in diesem Fall, zumal da die Menge des Materials hierfür nicht ausreichend war. Daß die ursprünglich für reines Wasser festgelegten Faktoren aber auch für den Harn stimmen, erhellt aus folgenden Angaben:

Harn vom spez. Gew. 1029,9, untersucht am 3. IV. 1918:

400 ccm, mit 80 ccm Kalkessig gefällt, gaben 12,05 mg Oxalation.

200 ccm, mit 40 ccm Kalkessig gefällt, gaben 6,11 mg Oxalation, berechnet für 400 ccm = 12,22.

200 ccm, mit 200 ccm dest. Wasser verdünnt und mit 80 ccm Kalkessig gefällt, lieferten 6,07 mg Oxalation, berechnet für 400 ccm Harn = 12,14.

Der Unterschied beträgt im höchsten Falle 0,17 mg, er ist also äußerst gering.

---

[1]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **35**, 51 und 52. 1918.

[2]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **35**, 42. 1918.

Eine zweite Fehlerquelle ist darin gegeben, daß das zum Auswaschen des Niederschlages benützte Waschwasser besonders bei einer geringen Menge des Calciumoxalates nicht stets beim Ablaufen vom Filter mit diesem Salz gesättigt ist, während wir durchgängig den Faktor 4,54 mg Oxalation im Liter „Waschwasser" annehmen.

Betreffs des analytisch festgelegten möglichen Versuchsfehlers diene die Angabe, daß man in 35 Bestimmungen, für welche eine abgewogene, teils in Wasser, teils in Bier oder in anderen Flüssigkeiten gelöste Menge Oxalsäure angewandt wurde, in 22 Fällen etwas zuwenig Oxalsäure wiederfand, im Durchschnitt 0,427 mg, während in 14 Analysen im Mittel 0,420 mg zuviel erhalten wurde. Die größten Abweichungen waren — 0,88 und + 0,88 mg, die geringsten — 0,09 und + 0,01 mg, das Mittel der Unterschiede aus sämtlichen Proben betrug — 0,0975 mg[1]).

Als äußerste Fehlergrenze dürfen wir also rund 1 mg Oxalsäure zulassen, bei zwei Vergleichsproben im allerungünstigsten Fall 2 mg.

Vergleichen wir nach dieser Begründung die in der Tabelle angeführten Zahlen, so haben wir bei Harn I im Versuch 1—3 nur eine Zunahme von 0,91 mg Oxalation, beim Versuch 4 (nach $14^5/_6$ Monat) dagegen eine solche von 5,87 mg.

Bei Harn II ergibt sich im Versuch 6 und 7 gegenüber Versuch 5 eine Abnahme an Oxalation von 1,19 mg, im Versuch 8 eine Zunahme von 0,63 mg.

Bezüglich des Harns III verzeichnen wir zwischen den Versuchen 9 und denjenigen 10—13 eine allmähliche Zunahme bis zu 2,03 mg Oxalation, dagegen in Versuch 14 eine solche von 3,14 mg.

Lassen wir die Versuche 2, 3, 6, 7, 8, 10, 11, 12 und 13 außer acht, weil hier die Unterschiede im gefundenen Oxalation auf analytischen Fehlern beruhen könnten, so haben wir aber nach den Versuchen 4 und 14 bei langem Stehen des sterilisierten Harns eine nicht unbeträchtliche Zunahme an fällbarem Oxalation zu verzeichnen, welche nur dadurch erklärt werden kann, daß im Laufe der Zeit die im Harn vorhandene Oxalursäure durch die sauren Bestandteile des Harns zersetzt wird. Ich gehe auf diesen Punkt noch näher in dem Abschnitt „Bestimmung der Oxalur-

[1]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei 36, 285. 1919.

säure" ein, muß aber hier bemerken, daß ich es leider verabsäumte, den Säuregehalt des Harns genau zu bestimmen, sondern diesen nur nach den qualitativen Reaktionen schätzte; es ergab aber der stark saure Harn I die größte Zunahme an Oxalation, der schwach saure Harn II nur eine schwache Zunahme, während der als „sauer" bezeichnete Harn III ein Plus von 3,14 mg Oxalation zeigte.

Zum Vergleich mit diesen Studien stellte ich Versuche mit ungehopfter und gehopfter Bierwürze an, welche bekanntlich keine Oxalursäure enthalten.

Tabelle II.

Nr. d. Versuche	Laboratoriums-infusionswürze, ungehopft	Datum der Untersuchung	Aufbewahrungsart	Angewandte Menge ccm	Zeit nach d. Sterilisieren	Gefunden Oxalation, berechnet auf die ursprüngliche Konzentration mg
1		5. IV. 19	Sofort untersucht	300	—	6,22
2		31. X. 19	In Flaschen mit Watteverschluß, im Dunkelraum aufbewahrt.	300	6⅚ Monat	6,30
3		30. VI. 20	Bis zum 3. XI. 19 in Flaschen mit Patentverschluß im Dunkelraum aufbewahrt, dann mit Watteverschluß versehen und ins zerstreute Tageslicht gestellt.	300	14⅚ Monat	5,37
4	Gehopfte Betriebswürze, Dekoktionsverfahren, klar filtriert.	7. XI. 19	—	300	1 Tag	11,52
5		8. XII. 19	In Flaschen mit Watteverschluß im zerstreuten Tageslicht.	300	1 Mon.	10,18
6		8. III. 20	Ebenso	300	4 Mon.	10,67
7		5. V. 20	„	300	6 Mon.	10,91
8		30. VI. 20	„	300	7⅔ Monat	11,95

Die Untersuchungsreihe nach Tabelle II ergab für die Versuche 1—3 einen höchsten Unterschied von 0,93 mg Oxalation, bei denen von 4—8 einen solchen von 1,34 mg. Eine bemerkenswerte Zunahme an Oxalation fand nicht statt, der größte Unter-

schied betrug 0,43 mg, den wir auf die unvermeidlichen Versuchsfehler buchen müssen.

Auch hieraus ergibt sich eine Stütze für die Anschauung, daß die Zunahme der Oxalsäure im Harn bei langem Stehen desselben durch eine Spaltung der Oxalursäure bedingt ist.

2. Die Bestimmung der Oxalsäure im diabetischen Harn.

Diabetischer Harn stand mir nicht zur Verfügung, ich versetzte daher normalen Harn mit d-Glucose (C. A. F. Kahlbaum).

Man erhielt aus 300 ccm Harn, direkt mit 60 ccm Kalkessig gefällt, 5,05 mg Oxalation. Der gleiche Harn, von welchem 300 ccm mit 50 ccm einer Lösung, enthaltend 17,5 g d-Glucose (Harnzucker), versetzt waren, lieferte mit 70 ccm Kalkessig gefällt ($^1/_5$ des Volumens!, welches jetzt statt 300 ccm 350 ccm betrug), 5,22 mg Oxalation, zum Zeichen, daß die d-Glucose einen Einfluß nicht ausübt.

Auch aus meinen zahlreichen Bestimmungen der Oxalsäure in künstlichen Lösungen, im Bier, in Bierwürzen und in Fruchtsäften bzw. Marmeladen geht ja hervor, daß ein Zuckergehalt ohne Bedeutung für die Bestimmung der Oxalsäure ist.

3. Die Bestimmung der Oxalsäure im Eiweißharn.

Herr Oberstabsarzt Dr. Albrand, dem ich für seine Liebenswürdigkeit auch an dieser Stelle verbindlichst danke, stellte mir Harn von an „Schützengraben-Nephritis" erkrankten Personen zur Verfügung.

Der Harn, den ich erst einige Tage nach dem „Lassen" am 8. VII. 1918 untersuchte, war leicht trübe, er enthielt neben den üblichen Epithelzellen auch Harnzylinder, dagegen wurden Oxalatkrystalle mikroskopisch nicht bemerkt. Der Harn war schwach alkalisch und enthielt 1,8 g Eiweiß im Liter.

Für 300 ccm ergab der Harn, direkt untersucht, gefällt mit 60 ccm Kalkessig, 2,29 mg Oxalation; nach dem Fällen des Eiweißes mittels Essigsäure und Kochen, Auswaschen des Filtrats bis auf 400 ccm, nunmehr gefällt mit 80 ccm Kalkessig ($^1/_5$ des Volumens!) 2,25 mg Oxalation.

Der Befund an Oxalsäure ist hier auffällig niedrig, was vielleicht auf die alkalische Reaktion des Harns und dadurch bedingtes Ausscheiden von Oxalaten zurückzuführen ist, bevor ich den Harn zur Untersuchung nahm.

Es wurden dann noch 300 ccm des nicht enteiweißten Harns mit 10 ccm einer Lösung, enthaltend 18,17 mg krystallisierte Oxalsäure, versetzt und mit 62 ccm Kalkessig gefällt. Man erhielt 14,80 mg Oxalation.

Der Zusatz an krystallisierter Oxalsäure betrug 12,67 mg Ion.
Der Harn mit Oxalsäurezusatz gab . . . . . 14,80 mg Oxalation
„ „ ohne „ gab im Mittel . . 2,27 „ „
mithin wurden von der zugesetzten Oxalsäure
wiedergefunden . . . . . 12,53 „ „
— also eine sehr gute Übereinstimmung.

Der Eiweißgehalt nephritischer Harne beeinträchtigt demnach die Untersuchung auf Oxalsäure nicht.

Daß Eiweißkörper und deren Abkömmlinge auf die Bestimmung der Oxalsäure einen Einfluß nicht ausüben, wies ich bei meinen Bieruntersuchungen usw. schon früher nach. Allerdings handelte es sich bei diesen meist um pflanzliches Eiweiß (abgesehen vom Pepton, welches ich zu einigen künstlichen Lösungen verwandte); es erschien mir daher notwendig, auch den Einfluß des pathologischen Harneiweißes zu prüfen.

4. Die Bestimmung der Oxalursäure.

Zunächst wurde die Frage geprüft, ob Oxalursäure bei der Bestimmung der Oxalsäure nach dem Kalkessigverfahren von nachteiligem Einfluß ist.

Eine bei 22° gesättigte wässerige Oxalursäurelösung wurde mit $^1/_5$ ihres Volumens Kalkessig vermischt und 2 Tage lang im Kühlraum aufbewahrt. Es hatte sich keine Spur von Calciumoxalatkrystallen ausgeschieden; die Gegenwart von Oxalursäure ist also für die Bestimmung der Oxalsäure nach dem Kalkessigverfahren bedeutungslos. Erst, als die essigsaure Mischung 10 Minuten lang gekocht und dann kalt hingestellt wurde, schied sie etwas Krystalle in Briefkuvertform aus. Nur nach dem Kochen mit Essigsäure war also etwas Oxalursäure gespalten worden.

Die Bestimmung dieser Säure ist in ihrer Spaltbarkeit durch Kochen mit Säure gemäß der Formel

$$NH_2CONHCOCOOH + 2\,HCl + 2\,H_2O = (COOH)_2 + CO_2 + 2\,NH_3HCl$$

gegeben, wenn man nach dieser Behandlung die entstandene Oxalsäure feststellt. Es entsprechen somit 90 Oxalsäure oder 88 Oxalsäureion 132 Oxalursäure.

Daß diese Methode auf den Harn bisher noch keine Anwendung fand, lag daran, daß es vor Einführung des Kalkessigverfahrens noch keine genaue Methode zur Bestimmung der Oxalsäure gab.

Bezüglich der Spaltfähigkeit der Oxalursäure stellte man folgende Versuche an.

Tabelle III.

1. 0,1874 g Oxalursäure gelöst zu 500 ccm destilliertem Wasser, angewandt je 100 ccm. Datum 13. IV. 1918.

Zusatz an $^n/_1$-Salzsäure	Behandlung	Oxalursäure gespalten in %
1 ccm	Nur aufgekocht	Spur
5 „	„ „	15,1
5 „	2 Minuten gekocht	knapp 43
5 „	5 „ „	58

2. 0,0676 g Oxalursäure gelöst zu 500 ccm destilliertem Wasser, angewandt je 100 ccm. Datum 25. IV. 1918.

Zusatz v. konzentrierter Salzsäure (D = 1,125)	Behandlung: Kochdauer	Oxalursäure gespalten in %
2 ccm	10 Minuten	89,9
2 „	30 „	97,2
2 „	45 „	100,7 *)
2 „	60 „	100,4*)

*) Daß hier anscheinend mehr als 100% der Oxalursäure gespalten wurde, liegt natürlich an unvermeidlichen Analysenfehlern.

Es dürfte demnach ein $^3/_4$stündiges Kochen der Lösung, welcher auf 100 ccm 2 ccm einer Salzsäure von D = 1,125 zugesetzt, ausreichend sein. Es stellte sich in der Praxis aber heraus, daß man beim Harn ein wenig mehr Salzsäure zusetzen muß, um die höchsten Werte zu erhalten, da anscheinend durch Salze und durch organische Stoffe (Harnstoff?) des Harns etwas Salzsäure gebunden wird.

Der Analysengang zur Bestimmung der Oxalursäure ist der folgende.

Im Harn wird die vorhandene Menge der Oxalsäure nach dem Kalkessigverfahren bestimmt. Man versetzt von demselben Harn 400 ccm mit 10 ccm Salzsäure vom spez. Gew. 1,125 und hält die Mischung eine Stunde lang im leisen Sieden (Temperatur 101—102° bei normalem Barometerstand von 760 mm, bei niedrigerem Luftdruck empfiehlt es sich, stärker zu kochen). Die Lösung wird

dunkelbordeauxrot und scheidet gewöhnlich einige schwarzbraune Flocken aus. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wird die Flüssigkeit in ein Becherglas filtriert, welches bei 400 ccm Inhalt eine Marke trägt. Man wäscht das Filter mit destilliertem Wasser aus, so lange, daß man noch etwas unter der Marke bleibt, fügt aus einer Bürette konzentrierte Ammoniaklösung unter Umrühren hinzu, bis daß die Lösung bei der Tüpfelprobe gegenüber neutralem Lackmuspapier noch schwach sauer bleibt, füllt das Becherglas mit destilliertem Wasser bis zur Marke auf und und bestimmt die Oxalsäure nach Zusatz von 80 ccm Kalkessig zufolge der im allgemeinen Teil angegebenen Methoden. Es scheiden sich nach dem Kalkessigzusatz noch schwarzbraune Flocken aus, so daß das gefällte Oxalat dunkel aussieht. Das gleiche ist der Fall, wie ich schon hier bemerke, bei der Untersuchung der Faeces.

Der Unterschied der jetzt gefundenen Menge an Oxalation gegenüber dem direkt ohne Säurebehandlung bestimmten Ion gibt das Maß für die vorhandene Oxalursäure an. Der Mehrbefund an Oxalation, mit der Zahl 1,5 multipliziert, ist als Oxalursäure in Rechnung zu stellen.

Bei der technischen Ausführung des Verfahrens ist darauf zu achten, daß sich der ungefähre Neutralpunkt der abgekühlten Lösung beim Zulassen von Ammoniak aus der Bürette schon dadurch bemerklich macht, daß in der umzurührenden Flüssigkeit dunklere Wolken auftreten, die bei einer weiteren Bewegung verschwinden. Sollte der Umstand eintreten, daß man gegen Lackmuspapier ein wenig übertitriert hat, so fügt man $^n/_{10}$-Salzsäure vorsichtig zu, bis die Reaktion „schwach" sauer ist.

Es könnte auch vorkommen, daß man beim Auswaschen des Filters und nach dem annähernden Neutralisieren etwas zu viel Filtrat erhält, dann ergänzt man das letztere mit destilliertem Wasser auf eine am Schluß in den Tabellen angegebene runde Zahl und fällt die jetzt vorhandene Menge mit $^1/_5$ ihres Volumens durch Kalkessig.

Für die Gültigkeit des Verfahrens führe ich folgende Belege an (s. Tabelle II).

Der Harn enthielt für 400 ccm 4,18 mg Oxalation, nach dem Lösen von 22,4 mg Oxalursäure 4,61 mg; trotzdem die Lösung in dem schwachsauren Harn in der Wärme erfolgte (Spaltung der

Tabelle IV.

Harn, schwach sauer D = 1013,8. Je 400 ccm. Datum 24. IV. 1918.

Nr.	Zusatz zum Harn, warm gelöst	Behandlung	Gefunden Oxalation	Unterschied zwischen Nr. in mg
1	Ohne Oxalursäure	Direkt gefällt	4,18 mg	
2	22,4 mg Oxalursäure	„ „	4,61 „	1 u. 2 = 0,43
3	Ohne Oxalursäure	Mit 10 ccm Salzsäure (1,125) 1 Std. gekocht	6,00 „	1 u. 3 = 1,88
4	13,8 mg Oxalursäure	Ebenso	15,81 „	3 u. 4 = 9,81 berechnet f. Oxalursäure 14,71 mg

Oxalursäure durch Säure), können wir den Unterschied von +0,43 mg auf die Rechnung von Versuchsfehlern setzen. Bei dem Versuch 3, Kochen mit Salzsäure (1,125) erhielten wir eine Zunahme von 9,81 mg Oxalation, entsprechend 14,71 mg Oxalursäure. Gegenüber der angewandten Menge, 13,8 mg, beträgt der Unterschied 0,91 mg, also ergab sich eine befriedigende Übereinstimmung. Trägt man dem Umstand Rechnung, daß beim Erwärmen des sauren Harns zwecks Lösung der zugefügten Oxalursäure auch diese im Harn selbst vorhandene Säure schon spurenweise gespalten werden kann, so kann das Ergebnis als genügend bezeichnet werden.

Dieser Harn enthielt nach den Proben 1 und 3 für 400 ccm 2,82 mg Oxalursäure, oder im Liter 7,05 mg Oxalursäure.

Andere Harne ergaben für den Liter

am 27. XI. 1918, spez. Gew. 1023,8 = 8,65 mg Oxalursäure,
„ 3. XII. 1918, „ „ 1018,6 = 6,25 „ „
„ 22. XII. 1918, „ „ 1019,4 = 3,30 „ „
„ 21. III. 1919, „ „ 1018,7 = 5,76 „ „
„ 1. XI. 1919, „ „ 1022,1 = 14,01 „ „

Der Gehalt von Oxalursäure ist also vom spez. Gew. des von verschiedenen Versuchspersonen stammenden Harns nicht abhängig, er schwankt vielmehr, wie auch die Oxalsäure, in weiten Grenzen; er ist aber — gegenüber einer früheren Anschauung groß genug, um analytisch festgelegt zu werden.

Ich hatte im Abschnitt 1 des speziellen Teils erwähnt, daß der Harn beim Stehen im sterilisierten Zustande zuweilen den Gehalt an Oxalsäure ansteigen läßt, und führte diesen Umstand auf eine, durch die Säure des Harns bedingte Spaltung der Oxalursäure zurück. Der in Tabelle I unter Nr. III erwähnte Harn gab

für 400 ccm, direkt untersucht, 6,28 mg Oxalation. Die Bestimmung der Oxalursäure lieferte den Wert für 300 ccm = 12,48 mg Oxalation, hiervon gehen ab 6,28 mg an vorgebildetem Oxalation, so daß für die Berechnung der Oxalursäure 6,26 mg Oxalation bleibt, woraus sich für Oxalursäure selbst die Zahl 9,39 mg ergibt.

Nachdem der Harn im sterilen Zustande 12 Monate gestanden hatte, gab dieser nach dem Kochen mit Salzsäure 11,09 mg Oxalation, hiervon gehen ab 9,42 mg an vorgebildetem Oxalation, so daß für die Berechnung der Oxalursäure 1,67 mg Oxalation übrigbleiben, aus denen sich 2,50 mg Oxalursäure berechnen.

Die Zunahme an Oxalation bei langem Stehen des sterilisierten Harns geht also Hand in Hand mit einer Abnahme des Gehaltes an Oxalursäure.

Der Harn II, von einer anderen Versuchsperson, gab, gleich nach dem Sterilisieren untersucht, für 400 ccm

mit Säure gekocht	= 16,34	mg	Oxalation
direkt untersucht	12,61	„	„
bleibt für Oxalursäure	3,73	„	„

woraus für Oxalursäure selbst die Zahl 5,59 mg folgt. Derselbe, wie ich schon in der Tabelle I erwähnte, schwach saure Harn gab nach 8 Monaten, für 200 ccm gefunden, die Zahlen:

mit Säure gekocht	7,91	mg	Oxalation
direkt untersucht	5,71	„	„
bleibt für Oxalursäure	2,20	„	„

oder Oxalursäure in 200 ccm = 3,30 mg, für 400 ccm, also 6,60 mg.

In diesem Fall war für den schwach sauren Harn ursprünglich gefunden in 400 ccm = 12,61 mg Oxalation und 5,59 mg Oxalursäure, nach 8 Monaten 11,42 mg Oxalation und 6,60 mg Oxalursäure.

Die geringen Unterschiede 12,61 bis 11,42 mg für vorgebildetes Oxalation und 5,59 bis 6,60 mg für vorhandene Oxalursäure sind natürlich durch analytische Fehler bedingt.

Nehmen wir Rücksicht auf letztere, so ergeben sich folgende Anhaltspunkte für die Genauigkeit der Oxalursäurebestimmung.

Ist als höchster Fehler bei der Feststellung des Oxalations 1 mg zugelassen, so kann sich derselbe bei der Differenzanalyse der Oxalursäure auf 2 mg im ungünstigsten Fall erhöhen. Haben wir 400 ccm Harn in Arbeit genommen, wozu schon ein Aufsammeln des Harns gehört, da 400 ccm einmal für die direkte Be-

stimmung des vorhandenen Oxalations, zweitens 400 ccm für die Feststellung der Oxalursäure gehören, so ist es möglich, daß der analytische Fehler für die Oxalursäure im Liter 6 mg ausmachen kann, und zwar im allerungünstigten Fall.

Leider ist es nach der vorliegenden Methode nicht möglich, den möglichen Fehler weiter herabzudrücken.

5. Vergleich des Kalkessigverfahrens mit früheren Methoden zur Bestimmung der Oxalsäure.

a) Verfahren nach E. Salkowski[1]).

Man dampft eine gegebene Menge Harn, etwa 500 ccm auf ein Drittel ein, läßt erkalten, fügt 20 ccm Salzsäure vom spez. Gew. 1,12 hinzu und schüttelt mindestens dreimal mit 20 ccm eines Gemisches von 9 bis 10 Volumen Äther und 1 Volumen Alkohol aus. Die abgetrennten Ätherauszüge werden durch ein trockenes Filter filtriert und unter Zusatz von etwas Wasser abdestilliert. Die zurückbleibende noch alkoholhaltige Flüssigkeit wird in einer Schale nach nochmaligem Wasserzusatz eingedampft. Nach dem Abkühlen filtriert man die Lösung, deren Volumen etwa 20 ccm betragen soll, durch ein kleines Filter und wäscht zweimal mit Wasser nach. Das Filtrat wird mit Ammoniak leicht alkalisch gemacht, mit 2 bis 3 ccm 10 proz. Chlorcalciumlösung (ob wasserfreies oder krystallisiertes Chlorcalcium ist nicht angegeben) versetzt und mit Essigsäure deutlich angesäuert. Das ausgefallene Calciumoxalat wird nach 12 bis 24 Stunden abfiltriert, durch Glühen in Ätzkalk verwandelt, als solcher gewogen und aus diesem Gewicht die Menge der Oxalsäure berechnet.

Eigene Versuche ergaben nun, daß nach dem Verfahren von E. Salkowski für den Liter berechnet, 10,91 mg Oxalation gefunden wurden, während sich nach der gleichzeitig ausgeführten Kalkessigmethode die Menge von 25,35 mg Oxalation ergab.

Der erhebliche Unterschied von 14,44 mg Oxalation zugunsten des Kalkessigverfahrens beruht in erster Linie darauf, daß früher die Bestimmung der Oxalsäure an sich nicht genau genug war (siehe den allgemeinen Teil), in zweiter Linie auch darauf, daß eine dreimalige Ausschüttelung des Harnes mit Äther nicht genügt, obgleich Paul Mayer[2]) angibt: „Kontrollen haben gelehrt, daß eine vierte Ätherextraktion des Harnes unnötig ist."

---

[1]) E. Salkowski bei C. Neuberg, Der Harn, S. 273.

[2]) Paul Mayer bei C. Neuberg, Der Harn, S. 273.

Es kommt natürlich auf die Art und Weise des Ausschüttelns an, deshalb sei bemerkt, daß ich mit der Hand ausschüttle, heftig je mindestens $1^1/_2$ Minuten lang; es ist dann fast immer eine Emulsion erzeugt, welche sich auch beim Stehen über Nacht (14 Stunden) häufig noch nicht klärte, sondern erst durch Hinzufügen von neuem Alkohol sich in zwei Schichten trennen ließ. In dem Harn sammelt sich schließlich eine größere Menge von Alkohol an, welcher wahrscheinlich das vollständige Ausschütteln der Oxalsäure durch Äther verhindert.

Bei meinen Versuchen war auch die vierte Ätherausschüttelung noch stark gelb gefärbt[1]).

Daß die Ausschüttelung der Oxalsäure durch Äther nicht glatt vor sich geht, daß auch in reiner wässeriger Lösung die Oxalsäure trotz Hinzufügens von Schwefelsäure betreffs Aufhebung der Ionisation selbst bei Verwendung des Rose-Partheilschen Apparates nicht ganz restlos stattfindet, wies Joh. Pinnow[2]) in zahlreichen Versuchen nach.

Bei Harn (eigene Versuche), und auch bei Bier (nach einer Mitteilung von W. Windisch-Berlin) kann man den Rose-Partheilschen Apparat nicht zur Extrahierung gebrauchen, da sich unliebsame Emulsionen bilden, welche ein Weiterarbeiten unmöglich machen.

Der Unterschied in dem Befunde des Kalkessigverfahrens gegenüber der Salkowskischen Methode ist also zwei Ursachen zuzuschreiben: Nicht genügende Ausschüttelung der Oxalsäure durch Äther nach E. Salkowski, nicht genügende Bestimmung der so gewonnenen Oxalsäure nach dem alten Verfahren.

Nach E. Salkowski[3]) kann bei starkem Eindampfen des Harns ein Teil der Oxalsäure sich dem Nachweis entziehen, indem er nicht mehr durch Äther extrahierbar wird. „Es handelt sich aller Wahrscheinlichkeit nach um eine Reaktion der Oxalsäure mit dem Harnstoff, die zur Oxalursäure führt."

Wenn ich zu meinen Versuchen den Harn zwar nicht stark eindampfte, sondern ihn zwecks Sammlung und Aufbewahrung verschiedener Proben sterilisierte, so fand ich doch nie, daß die Oxalsäure, als Oxalation bestimmt, innerhalb der zulässigen Fehlergrenzen abnahm, im Gegenteil wies ich bei langem Stehen des Harns mitunter eine Zunahme an Oxalursäure nach.

Die nach dem Kalkessigverfahren gefundene größere Menge an Oxalsäure ist nicht auf die Bildung von Oxalursäure zurückzuführen, denn die letztere reagiert mit dem Kalkessig nicht.

Es ist möglich, daß man bei Verwendung eines Schüttelapparates bessere Ergebnisse erhält, als ich erzielen konnte, jedoch hat H. Mac Lean[4]) bei der Überprüfung der Methode von Autenrieth und Barth ebenfalls mit der Hand ausgeschüttelt, allerdings dampfte er den Harn nicht bloß auf ein Drittel ein, sondern brachte denselben öfter fast oder ganz bis zur Trockne.

---

[1]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **35**, 57. 1918.

[2]) Joh. Pinnow, Zeitschr. f. analyt. Chemie **54**, 332, 336. 1915.

[3]) E. Salkowski bei C. Neuberg, Der Harn, S. 275.

[4]) H. Mac Lean, Zeitschr. f. physiol. Chemie **60**, 20. 1909.

Nach dieser Abschweifung kehren wir wieder zu der Differenz von 14,44 mg zurück, welche wir bei der Salkowskischen Methode gegenüber dem Kalkessig zu wenig fanden.

Die von dem Äther abgetrennte stark salzsaure Lösung wurde mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht, sofort durch ein Filter Schleicher & Schüll Nr. 602 „hart" blank filtriert und, nachdem ihr Volumen zu 245 ccm[1]) festgestellt war, mit 50 ccm Kalkessig versetzt. Es schied sich, wie mikroskopisch nachgewiesen wurde, noch Kalkoxalat aus.

Die Untersuchung ergab für den Liter berechnet: 12,14 mg Oxalation.

An Stelle des obenerwähnten Unterschiedes von 14,44 mg fanden wir in dem ausgeätherten Harn noch 12,14 mg wieder, der Verlust schrumpft soweit auf 2,30 mg zusammen, eine Zahl, die sich durch analytische Fehler zwanglos erklären läßt.

Bei Bier[2]) fand ich nach E. Salkowski im Liter 7,19 mg Oxalation, nach dem Kalkessigverfahren 17,02 mg. In dem mit Äther ausgeschüttelten Bier, bei welchem bekanntlich eine Bildung von Oxalursäure nicht in Frage kommt, fand man noch, für den Liter berechnet, 6,06 mg Oxalation.

Die Differenz gegenüber der Kalkessigmethode beträgt nach E. Salkowski . . . . . 9,83 mg,
wiedergefunden im ausgeätherten Bier . . . . . 6,06 „
zusammen = 15,89 mg;

somit bleibt gegenüber dem Kalkessigverfahren noch ein Verlust von 1,13 mg, der natürlich analytischen Fehlern zuzuschreiben ist.

Es ist somit einwandfrei bewiesen, daß das Verfahren nach E. Salkowski zu niedrige Werte ergibt.

b) Das Verfahren von W. Autenrieth und H. Barth[3]) ist schon von H. MacLean[4]) als unzuverlässig erkannt worden.

c) Verfahren von Schreiber und Hüne.

[1]) Die ursprünglichen 500 ccm Harn waren auf ein Drittel, also auf 170 ccm eingedampft worden; durch die Beigabe von 20 ccm HCl, durch Aufnahme von Alkohol, durch das Ausspülen der Gefäße mit wenig destilliertem Wasser und durch das Neutralisieren hatte sich das Volumen auf 245 ccm vermehrt.

[2]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **35**, 58. 1918. — Die dort für Oxalsäure angegebenen Zahlen sind hier für Oxalation umgerechnet.

[3]) W. Autenrieth und H. Barth, Zeitschr. f. physiol. Chemie **35**, 327. 1902.

[4]) H. MacLean, Zeitschr. f. physiol. Chemie **60**, 20. 1909.

Nach E. Schreiber und W. Hüne[1]) versetzt man eine bestimmte Menge Harn nach vorherigem Eindampfen mit 5 ccm einer 10proz. Chlorcalciumlösung, dann mit Ammoniak und darauf bis zur neutralen oder schwach sauren Reaktion mit Essigsäure. Den entstandenen Niederschlag sammelt man nach 24 Stunden auf einem Filter, bringt dieses in einen Schütteltrichter, fügt 3 ccm konzentrierte Salzsäure hinzu und schüttelt zweimal mit je 100 ccm Äther aus, der 5—10% Alkohol enthält. Man trennt die Ätherauszüge, läßt sie durch ein trockenes Filter laufen und behandelt sie nach der Salkowskischen Vorschrift. Nach dieser wird der Äther unter Zusatz von etwas Wasser, welches die Bildung von Oxalsäureester verhindert[2]), abdestilliert, der Rückstand unter nochmaliger Beigabe von Wasser auf etwa 20 ccm eingeengt, durch ein kleines Filter gegeben und das letztere zweimal mit wenig Wasser nachgewaschen. Das Filtrat macht man mit Ammoniak leicht alkalisch, versetzt es mit 2—3 ccm einer 10proz. Chlorcalciumlösung und säuert es mit Essigsäure deutlich an. Den Niederschlag filtriert man nach 12—24 Stunden ab, verwandelt ihn durch Glühen in Ätzkalk, aus dessen Gewicht die Oxalsäure berechnet wird.

Man erhielt nach Schreiber und Hüne für den Liter berechnet,

im ersten Versuch	11,19	mg Oxalation,
nach dem Kalkessigverfahren	18,31	„ „ „
also mehr	7,12	mg Oxalation.
Im zweiten Versuch: nach Schreiber und Hüne	8,16	mg Oxalation,
nach dem Kalkessigverfahren	13,95	„ „ „
mithin mehr	5,79	mg Oxalation.

Auch hier ergab sich bei einer weiteren Prüfung[3]), daß das Filtrat von der nach Schreiber und Hüne vorgenommenen Fällung noch Oxalsäure enthielt.

Wir dürfen daher wohl annehmen, daß das Kalkessigverfahren zur Zeit die genaueste, einfachste und billigste Methode zur Bestimmung der Oxalsäure ist im Harn, im Bier, sowie auch in Pflanzensäften.

6. Die Bestimmung der Oxalsäure in den Faeces.

Frische menschliche Faeces lassen sich insofern ungünstig verarbeiten, als die mit ihnen hergestellten Lösungen äußerst schlecht zu filtrieren sind. Nach vielfachen Versuchen mußte ich mich entschließen, nur das getrocknete Produkt zu verwenden.

[1]) W. Hüne, Über die quantitative Bestimmung der Oxalsäure im Harn. Inaug.-Diss. Göttingen 1901.

[2]) Der Äther enthält Alkohol und dieser würde ohne die Beigabe von Wasser einen Teil der Oxalsäure in der Wärme verestern.

[3]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **35**, 57. 1918.

Letzteres wurde feingemahlen und in ihm der Wassergehalt festgestellt. Ein vorheriges Entfetten war bei dem während der Periode der Rationierung der Lebensmittel angestellten Versuche nicht nötig.

a) Einfluß der Digestionsdauer.

1. Es wurden 4 bzw. 8 g getrocknete Substanz mit 8,71% Wassergehalt in einem Porzellanbecher mit 10 ccm einer zur Hälfte mit Wasser verdünnten Salzsäure (D = 1,124) zu einem gleichmäßigen Brei angerührt, eine Stunde stehen gelassen, dann 200 ccm destilliertes Wasser zugegeben, Kohlensäure auf die Oberfläche der Mischung geleitet und unter öfterem Umrühren 24, 48 und 72 Stunden lang hingestellt. Der Kohlensäureschutz gegen eine eventuelle Oxydation des Eisens war somit nur ein geringer wenn auch die Becher mit Glasplatten überdeckt waren.

Um die nachfolgende Tabelle besser zu verstehen, sei der Verlauf eines Versuches ausführlich mitgeteilt.

Nach 24stündiger Digestion betrug	
das Gesamtgewicht	361,84 g
Tara	156,75 g
Gewicht der Maische	205,09 g
Hiervon geht ab das Gewicht der Trockensubstanz (4 g)	= 3,65 g
bleiben für Lösungsflüssigkeit (Wasser + HCl)	= 201,44 g

Diese Lösung wurde blank filtriert und hatte das spez. Gew. 1,007. Der Verdampfungsrückstand von 25 ccm betrug bei 110° getrocknet 0,1992 g, 100 ccm enthielten somit 0,7968 g und 100 g also 0,7912 g oder 0,79% Extrakt.

Es wurden 150 ccm mit Ammoniak, welches man aus einer Bürette zugab, neutralisiert. Zuerst ließ man das Ammoniak in einem dünnen Strahle zulaufen, bis in der Flüssigkeit eine Trübung durch schwarzbraune Flocken auftrat, welche beim Umrühren wieder verschwanden; dann wurde unter Anwendung der Tüpfelprobe gegen neutrales Lackmuspapier fast bis zur Erreichung des Neutralpunktes titriert. Verbrauch 2,6 ccm Ammoniak. Zu der trüben Flüssigkeit setzte man 4,4 ccm einer Lösung von neutralem citronensaurem Ammoniak, enthaltend 5 g krystallisierter Citronensäure in 50 ccm, wodurch sich die Flüssigkeit wieder aufhellte. Die Menge der letzteren betrug nun 150 + 2,6 + 4,4 = 157 ccm; um eine abgerundete Zahl für die spätere Berechnung zu erhalten, wurden noch 3 ccm destilliertes Wasser zugegeben, die nunmehr

160 ccm betragende Menge mit dem fünften Teil ihres Volumens, also mit 32 ccm Kalkessig gefällt und auf etwa 40 Stunden in den Kühlraum zur vollständigen Ausscheidung des Calciumoxalates gestellt. Darauf wurde der Niederschlag abfiltriert, nach dem Wechseln des Auffanggefäßes für das „Filtrat" = 192 ccm mit kaltem destilliertem Wasser so lange ausgewaschen, bis die Reaktion auf Chlor bei der Prüfung durch mit Salpetersäure angesäuertem Silbernitrat verschwunden war, und dieses „Waschwasser", wie wir das zweite Filtrat nennen, gemessen = 105 ccm. Das Filter wurde verascht, vor dem Gebläse geglüht und der Glührückstand mit $^n/_{10}$-Salzsäure titriert.

Glührückstand = 9,8 mg entsprechend

2,95 ccm $^n/_{10}$-Säure	12,97 mg	Oxalation
Das Filtrat, 192 ccm, enthielt gelöst	0,64 „	„
Das Waschwasser, 105 ccm, enthielt gelöst . . .	0,48 „	„
gefunden zusammen	14,09 mg	Oxalation

Die Werte für die im Filtrat und im Waschwasser noch enthaltene Oxalsäure brauchen nicht in jedem Einzelfall berechnet zu werden, man entnimmt sie den weiter unten angegebenen beiden Tabellen.

In 150 ccm Lösung fanden wir somit 14,09 mg Oxalation.

Diese 150 ccm wogen (spez. Gew. = 1,007)	151,05 g
in ihnen sind enthalten 0,79% Extrakt oder	1,18 g
demnach bleiben für Lösungsflüssigkeit (Wasser + HCl) . . .	149,87 g

Angewandt hatten wir 4 g Substanz und diese mit 201,44 g Lösungsflüssigkeit (Wasser + HCl) digeriert.

Wir haben damit den Ansatz:

149,87 g Lösungsflüssigkeit enthalten	14,09 mg	Oxalation.
201,44 g „ „	18,94 „	„
oder 100 g Substanz	47,35 „	„

oder 0,47%.

Die Tabelle V zeigt in Spalte 2 die Menge der zur Untersuchung angewandten Substanz, auf mg genau abgewogen, in Spalte 3 die Angabe, welchen Wassergehalt dieselbe besaß, sowie die Bemerkung, ob die Digestion mit CO_2-Schutz oder ohne denselben an freier Luft erfolgte. Bei den Proben 1 bis 4 der ersten Versuchsreihe wurde nur einfach Kohlensäure auf die Oberfläche der Flüssigkeit geblasen, der CO_2-Schutz, bezweckend die Abhaltung der Luft, war somit noch ungenügend, bei der zweiten und dritten Versuchsreihe, Proben 5 bis 7 und 8 bis 11, wurde die abgewogene Substanz in einen Kochkolben geschüttet, dieser mit Kohlensäure

Tabelle V.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Laufende Nr.	Angewandte Substanz g	Bemerkung	Digestionsdauer in Stunden	Gewicht der Maische g	Lösungsflüssigkeit (Wasser + HCl) g	Filtrat der Maische: Spezifisches Gewicht	Filtrat der Maische: Extraktgehalt f. 100 ccm	Zur Untersuchung angewandt ccm	Gefunden Oxalation mg	Berechnet für d. angewandte Menge Substanz mg	Berechnet für 100 g Substanz %
1	4	Substanz mit 8,71% aq m. CO_2-Schutz	24	205,09	201,44	1,007	0,7968	150	14,09	18,94	0,4735
2	4	„	48	206,08	202,43	1,007	0,7960	150	12,16	16,43	0,4107
3	4	„	72	195,09	191,44	1,009	0,8328	150	13,14	16,74	0,4185
4	8	„	72	210,76	203,46	1,010	0,5700	150	24,13	32,92	0,4115
5	5	Substanz mit 2,40% aq ohne CO_2-Schutz	36	211,30	206,42	1,0108	0,9836	150	4,65	6,39	0,1278
6	5	Substanz mit 2,40% aq doch mit CO_2-Schutz	36	309,88	305,00	1,0074	0,8144	200	5,10	7,87	0,1576
7	10	„	36	322,56	312,80	1,009	1,2176	150	7,64	15,95	0,1595
8	5	Substanz mit 5,18% aq m. CO_2-Schutz	24	194,64	189,90	1,0112	1,5480	140	13,02	17,75	0,3550
9	5	„	24	206,70	201,96	1,0118	1,6880	150	12,65	17,13	0,3426
10	10	„	24	211,48	202,00	1,0178	3,2120	150	25,84	35,34	0,3534
11	5	dieselbe Substanz doch ohne CO_2-Schutz	24	200,73	195,99	1,0118	1,680	150	10,70	14,22	0,2855

gefüllt, darauf die verdünnte Säure und nach der Mischung mit dieser destilliertes Wasser zugegeben, nach gründlicher Durchmischung wiederum Kohlensäure auf die Oberfläche der Mischung geleitet und der Kolben mit einem Kork verschlossen.

Spalte 4 zeigt die Digestionsdauer in Stunden an, die Gefäße standen während dieser Zeit im Dunkelraum. In Spalte 5 finden wir das Gewicht der Maische in g, darunter ist die Mischung der Substanz mit dem säurehaltigen Wasser verstanden.

Spalte 6 gibt uns die Menge der Lösungsflüssigkeit, des mit Salzsäure angesäuerten Wassers an; das Gewicht derselben wird berechnet, wenn man von dem Gewicht der Maische das Gewicht

der als absolute Trockensubstanz berechneten Menge der angewandten Substanz abzieht, z. B. 4 g Substanz enthalten 8,71% Wasser und demnach 3,65 absolute Trockensubstanz, Gewicht der Maische 205,09 g — 3,65 g = 201,44 g, dem Gewicht der Lösungsflüssigkeit.

Spalte 7 und 8 bringen von dem Filtrat der Maische das spez. Gew., welches nur bis auf die dritte Dezimale genau festgestellt zu werden braucht, sowie den Extraktgehalt, d. h. die Menge der festen, in Lösung gegangenen Stoffe. Letztere wurden durch Verdampfen von 25 bzw. 20 oder 10 ccm (je nach der Menge des vorhandenen Filtrats) und Trocknen des Rückstandes bei 105—110° festgestellt. Die Zahlen geben g in 100 ccm an.

Spalte 9 enthält die Menge des zur Untersuchung angewendeten Filtrates, welches nach dem Neutralisieren mit Kalkessig gefällt wurde, und Spalte 10 die Menge des vorhandenen Oxalations in mg.

In Spalte 11 finden wir die Menge Oxalation für die in Spalte 2 angewandte Substanz. Die Berechnung dieser Zahl geschieht auf folgende Weise. In Spalte 6 haben wir das Gewicht der Lösungsflüssigkeit (Wasser und Salzsäure) festgestellt, nach Spalte 9 wandten wir aber die abgemessenen ccm Filtrat an, welches in der Lösungsflüssigkeit noch feste Stoffe (nach Spalte 8 bestimmt) enthält. Wir müssen daher aus der abgemessenen Menge Filtrat das Gewicht der Lösungsflüssigkeit berechnen. Dies geschieht, indem wir von der ersteren die in ihr enthaltenen festen Stoffe (nach Spalte 8, auf die angewandten ccm [150 bzw. 200 oder 140] berechnet) abziehen und mit dem spezifischen Gewicht multiplizieren. Wir erhalten so die Zahl für das Gewicht der Lösungsflüssigkeit, welches die in Spalte 10 angegebene Menge Oxalation enthält, und können nun nach einem einfachen Ansatz berechnen, wieviel Oxalation in der Gesamtmenge der Lösungsflüssigkeit (Spalte 6) enthalten ist. Diese Zahl, welche Spalte 11 wiedergibt, ist natürlich das Oxalation, welches in der angewandten Menge Substanz (Spalte 2) vorhanden ist, und hieraus folgt dann ohne weiteres der in Spalte 12 angegebene Prozentgehalt der ursprünglichen Substanz an Oxalation.

Die erste Versuchsreihe, Proben 1 bis 4, sollte den Einfluß der Digestionsdauer feststellen, ob 24 Stunden zur Auflösung der Oxalsäure genügen. Wir sehen, daß nach 24 Stunden der höchste

Wert für Oxalation mit 0,4735% erhalten wurde, während nach 48 und 72 Stunden nur 0,4107 bis 0,4185% gefunden wurde. Dieser scheinbare Widerspruch erklärt sich aber leicht dadurch, daß der Kohlensäureschutz bei diesen Proben ein ungenügender (siehe oben) war; bei der längeren Digestionsdauer war etwas Eisen, welches in den Faeces stets als Oxydul vorhanden ist, durch hinzudiffundierten Luftsauerstoff oxydiert und seinerseits durch die Oxalsäure wieder reduziert worden. Hierdurch erklärt sich also die Abnahme des Oxalations bei einer längeren Digestionsdauer; für diese reichen 24 Stunden aus, um die Oxalsäure in Lösung zu bringen.

Den soeben erwähnten Einfluß des Luftsauerstoffes bei eisenhaltigen Proben auf die Bestimmung der Oxalsäure sehen wir deutlicher in der zweiten und dritten Versuchsreihe. Nach Versuch 6 und 7 erhielten wir mit Kohlensäureschutz 0,1576 und 0,1595% Oxalation, also fast identische Zahlen, ohne denselben nur 0,1278%, also 0,03% weniger, es wurden daher, wenn wir die vorhandene Menge Oxalation gleich 100 setzen, ohne Kohlensäureschutz rund 18% zu wenig gefunden.

In der dritten Versuchsreihe erhielt man mit Kohlensäureschutz 0,3426 bis 0,3550, im Mittel 0,3502, ohne denselben 0,2855, im Mittel 0,074% oder Oxalation gleich 100 gesetzt, 18,5% weniger.

Ist die von uns befolgte Methode der Oxalsäurebestimmung richtig, so muß man bei Anwendung der gleichen Menge Lösungsflüssigkeit, aber verschiedenen Mengen ursprünglicher Substanz, stets zu dem gleichen Endergebnis, in Prozenten ausgedrückt, gelangen.

Von der ersten Versuchsreihe, Nr. 1 bis 4, können wir natürlich nur diejenigen Proben vergleichen, welche die gleiche Zeit über gestanden hatten, also Nr. 3 und 4. Hier gaben 4 g Substanz 16,74 mg Oxalation, die doppelte Menge 8 g 32,92 mg statt 33,48 m. Der Unterschied beträgt nur 0,56 mg, er liegt also innerhalb der Versuchsfehler. In Prozenten ausgedrückt ist der Gehalt an Oxalation bei Anwendung von 4 g 0,4185, bei Anwendung von 8 g 0,4115, mithin ist ein Unterschied von 0,0070% vorhanden.

In der zweiten Versuchsreihe, Nr. 5 bis 7, sind die beiden Proben 6 und 7, beide mit Kohlensäureschutz, zu vergleichen, da

die dritte Probe, Nr. 5, unter anderen Bedingungen angestellt war. Die betreffenden Zahlen sind für 5 g 7,87 mg, für 10 g Substanz 15,95 an Stelle von 15,74, mithin 0,21 mg zu viel. Diesem geringen Unterschied entsprechend zeigen auch die Werte für den Prozentgehalt 0,1576 und 0,1595 eine sehr gute Übereinstimmung.

In der dritten Versuchsreihe, Nr. 8 bis 11, kommen die Proben 8 bis 10 zur Vergleichung. Hier finden wir für 5 g Substanz 17,75 und 17,13 mg Oxalation, im Mittel 17,34 mg, für 10 g Substanz 35,34 mg, während der aus 5 g berechnete Wert sich zu 34,68 mg, mithin 0,66 mg niedriger stellt. In Prozenten ausgedrückt sind die Zahlen für 5 g im Mittel 0,3488, für 10 g Substanz 0,3534, also 0,0046 zu viel.

Wir sind demnach berechtigt, anzunehmen, daß das vorgeschlagene Verfahren der Untersuchung von Substanzen auf Oxalsäure auf einer richtigen Grundlage beruht, und daß man nach demselben den Prozentgehalt auf etwa $^1/_{100}$% genau bestimmen kann, wenn man 5 bis 10 g Substanz anwendet. Die Genauigkeit wird sich im Verhältnis steigern lassen, sobald man eine größere Einwage, z. B. 25 g, zur Untersuchung in Gebrauch nimmt.

Es mögen noch einige Worte über den Gehalt der Faeces an Oxalsäure gesagt sein.

Nach der ersten Reihe der Tabelle V fanden sich im Ausgangsmaterial mit 8,71% aq., auf Trockensubstanz berechnet also 0,51%, nach der zweiten Versuchsreihe ebenfalls für Trockensubstanz 0,16% und nach der dritten 0,37%. Der Gehalt an Oxalsäure schwankt also in weiten Grenzen; die Ursache hierfür ist in der Kost begründet, sie richtet sich natürlich nach der in der Nahrung selbst vorhandenen Menge an Oxalsäure. Für Stoffwechselversuche wäre es von Wert, zu untersuchen, wieviel von der wasserlöslichen und der wasserunlöslichen Oxalsäure, welche in den Nahrungsmitteln vorhanden ist, durch die Nieren entfernt, und wieviel als unlöslich mit den Faeces ausgeschieden wird.

Da ich wissenschaftlich genaue Stoffwechselversuche nicht durchführte, demnach auch eine Abgrenzung der Defäkation in bezug auf die Nahrungsaufnahme nicht vornahm, sei hier nur kurz erwähnt, daß abgesehen von dem aus Kriegsbrot und Suppen mit etwas Zulage bestehenden Frühstücks- und Abendessen die Mittagskost, welche die Hauptmenge der Ernährung während der

vorstehend erwähnten Versuche bildete, bei den Proben 1 bis 4 aus Spinat, welcher reichlich Oxalsäure enthält, bestand, bei den Versuchen 5 bis 7 aus Kartoffelbrei mit Zwiebelsauce und wenig Speck, bei den Nr. 8 bis 11 aus Schneidebohnen (selbst eingelegtes Büchsengemüse) mit 50 g Fleisch pro Kopf und natürlich mit Kartoffeln.

Betreffs der Bestimmung der Oxalsäure in Nahrungs- und Genußmitteln verweise ich auf frühere Mitteilungen, in bezug auf stärkemehlhaltige Produkte: Stengelknollen (Kartoffeln), Halm- und Hülsenfrüchte auf die Wochenschr. f. Brauerei[1]), in bezug auf Gemüse, Brot, Marmeladen, Tee und Kaffee auf die Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm.[2]).

Bei der Untersuchung der Faeces, auch bei Gemüsen, Marmeladen usw., zwecks Bestimmung der Oxalsäure ist nach meinem Dafürhalten das beste Verfahren zur Erzielung der Lösung der Oxalsäure das kalte Auslaugen der Substanz, und zwar zur Feststellung des wasserlöslichen Anteils an dieser Säure mit destilliertem Wasser, der Gesamtmenge an Oxalsäure aber mit stark salzsaurem Wasser.

In den normalen menschlichen Faeces fand ich wasserlösliche Oxalsäure nicht auf, sondern nur Oxalate, welche erst durch Behandeln mit salzsäurehaltigem Wasser in Lösung gingen.

Ich muß aber nun bemerken, daß ich beim Kochen der Faeces mit verdünnter Salzsäure eine geringe Zunahme an Oxalsäure gegenüber dem kalten Auslaugen fand. Da das letztere Verfahren sich bei allen meinen Versuchen mit den verschiedensten vegetabilischen Stoffen bewährt hatte, wie die zahlreichen Differenzanalysen zeigen, halte ich es nicht für ausgeschlossen, daß auch in den Faeces Oxalursäure vorhanden ist, welche erst beim Kochen mit Salzsäure Oxalsäure abspaltet. Einen Beweis für diese meine Ansicht durch qualitative Feststellung der Oxalursäure in den Faeces kann ich allerdings nicht geben[3]).

Zur Ersparung des jedesmaligen Ausrechnens des im „Filtrat" und im „Waschwasser" gelösten Oxalations mögen die beiden folgenden Tabellen dienen.

---

[1]) A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei **36**, 295, 301. 1919.

[2]) A. Bau, Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. **60**, 997. 1920.

[3]) Siehe Nachtrag.

Tabelle VI.

Das Filtrat hält in Lösung pro Liter 3,34 mg Oxalation. Unter Filtrat verstehen wir die Menge Flüssigkeit, welche sich zusammensetzt aus der Menge der angewandten Lösung und der Menge des zum Fällen angewandten Kalkessigs. Letztere beträgt $^1/_5$ des Volumens der ersteren Menge.

Zur Untersuchung angewandtes Volumen ccm	Zusatz von Kalkessig ccm	Menge des Filtrates ccm	Im Filtrat gelöstes Oxalation mg	Zur Untersuchung angewandtes Volumen ccm	Zusatz von Kalkessig ccm	Menge des Filtrates ccm	Im Filtrat gelöstes Oxalation mg
10	2	12	0,04	135	27	162	0,54
15	3	18	0,06	140	28	168	0,56
20	4	24	0,08	150	30	180	0,60
25	5	30	0,10	160	32	192	0,64
30	6	36	0,12	170	34	204	0,68
35	7	42	0,14	175	35	210	0,70
40	8	48	0,15	180	36	216	0,72
45	9	54	0,18	190	38	228	0,76
50	10	60	0,20	200	40	240	0,80
55	11	66	0,22	210	42	252	0,84
60	12	72	0,24	220	44	264	0,88
65	13	78	0,26	250	50	300	1,00
70	14	84	0,28	260	52	312	1,04
75	15	90	0,30	270	54	324	1,08
80	16	96	0,32	275	55	330	1,11
85	17	102	0,34	300	60	360	1,20
90	18	108	0,36	310	62	372	1,24
100	20	120	0,40	320	64	384	1,28
110	22	132	0,43	350	70	420	1,40
120	24	144	0,48	400	80	480	1,60
125	25	150	0,50	410	82	492	1,64
130	26	156	0,52	420	84	504	1,68

Tabelle VII.

Gehalt des Waschwassers an gelöstem Oxalation. Wenn die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit, das „Filtrat", abfiltriert ist, wechselt man das Auffanggefäß, spritzt dann erst den Niederschlag aufs Filter und wäscht ihn mit kaltem Wasser aus. Dieses zweite Filtrat wird Waschwasser genannt, es löst aus dem Niederschlag noch Calciumoxalat auf und enthält, mit diesem gesättigt, für das Liter berechnet, 4,54 mg Oxalation.

Waschwasser ccm	Darin gelöst Oxalation mg	Waschwasser ccm	Darin gelöst Oxalation mg	Waschwasser ccm	Darin gelöst Oxalation mg	Waschwasser ccm	Darin gelöst Oxalation mg	Waschwasser ccm	Darin gelöst Oxalation mg
75	0,34	120	0,54	165	0,75	210	0,95	255	1,16
80	0,36	125	0,57	170	0,77	215	0,98	260	1,18
85	0,38	130	0,59	175	0,79	220	1,00	265	1,20
90	0,41	135	0,61	180	0,82	225	1,02	270	1,22
95	0,43	140	0,63	185	0,84	230	1,04	275	1,25
100	0,45	145	0,66	190	0,86	235	1,07	280	1,27
105	0,48	150	0,68	195	0,88	240	1,09	285	1,29
110	0,50	155	0,70	200	0,91	245	1,11	290	1,32
115	0,52	160	0,73	205	0,93	250	1,13	295	1,34

IV. Nachtrag.

1. Betreffs fett- und harzhaltiger Substanzen erwähnte ich, daß ein Ausäthern derselben keinen Einfluß auf die Bestimmung der Oxalsäure ausübe, da letztere in freiem Zustande in Pflanzenprodukten nicht vorkommt.

Nachdem die vorstehende Arbeit bereits gedruckt war, erhielt ich einen stark geschwefelten Hopfen, dessen Ätherextrakt Spuren von Oxalsäure aufwies. Das Vorkommen freier Oxalsäure in diesem Fall erkläre ich so, daß die schweflige Säure sich zu einem Teile zu Schwefelsäure oxydiert und infolgedessen Oxalsäure aus deren Salzen in Freiheit setzen kann.

Das Vorkommen freier Oxalsäure wäre vielleicht auch bei Faeces denkbar, wenn eine schwere Vergiftung durch diese Säure vorliegt.

Um diesen außergewöhnlichen Verhältnissen Rechnung zu tragen, teile ich für den Hopfen den Analysengang mit, welcher sich ohne weiteres auf fetthaltige — oder bei Vergiftungsfällen auch auf fettarme — Faeces übertragen läßt.

Von dem Hopfen wurden 6 g im Soxhlet mit Äther extrahiert, der Äther abdestilliert, der verbleibende Rückstand in Alkohol von 90 Gew.-Proz. gelöst, filtriert und das Filter mit Alkohol so lange nachgewaschen, bis daß das Filtrat wasserhell ablief. Letzteres wurde mit einer gesättigten alkoholischen Lösung von Calciumacetat versetzt und auf 24 Stunden in den Kühlraum gestellt. Es schied sich ein loser flockiger Niederschlag aus, welcher mikroskopisch keine Krystalle zeigte. Den Niederschlag filtrierte man durch ein Filter Schleicher und Schüll Nr. 589 „Weißband", welches solange mit Alkohol nachgewaschen wurde, bis daß das in einem Becherglase von etwa 5 cm Durchmesser zeitweise aufgefangene Filtrat wasserklar war.

Das Filter wurde mit 25 ccm Normalsalzsäure zum Kochen erhitzt und die Lösung durch ein anderes Filter gegeben; nach mehrmaligem Auswaschen des letzteren mit destilliertem Wasser wurde das Filtrat auf 20 ccm in einem mit Marke versehenen Becherglase eingedampft. Bei diesem Lösen in Salzsäure schied sich etwas Hopfenharz aus, welches ja abfiltriert wurde. Das abgekühlte Filtrat versetzte man mit 24 ccm Normalnatronlauge und mit 9 ccm Kalkessig. Nach 48stündigem Stehen im Kühlraum hatte sich ein Hauch Bodenbelag gebildet, welcher wohl ausgebildete Oxalatkrystalle in der Briefkuvertform zeigte.

Die quantitative Prüfung ergab einen Glührückstand von 0,2 mg, welcher in 1,00 ccm $^n/_{10}$-Salzsäure gelöst, zum Zurücktitrieren 1,00 $^n/_{10}$-Natronlauge verbrauchte. Somit war die freie Oxalsäure nicht bestimmbar, daß aber Spuren derselben gegenwärtig waren, ergab die mikroskopische Untersuchung.

2. Die Bestimmung etwa vorhandener Oxalursäure in den Faeces ersieht man am besten aus einem Beispiel.

Es wurden 15,000 g getrocknete und gemahlene Faeces von 8,70% Wassergehalt am 28. XII. 1920 in einem tarierten mit Kohlensäure gefüllten Kolben mit 25 ccm Salzsäure (D = 1,124) übergossen, durchgeschüttelt, darauf etwa 400 ccm kaltes, luftfreies, mit Kohlensäure gesättigtes dest. Wasser hinzugefügt, die durch Schütteln bewirkte Mischung mit einem Kork verschlossen und auf 24 Stunden in den Kühlraum gestellt. Letzteres geschah aus dem Grunde, um die Wirkung der Salzsäure auf die Oxalursäure, welche ja durch Säure in der Wärme gespalten wird, zu vermeiden.

Die Mischung filtrierte man durch ein großes Filter Schleicher u. Schüll Nr. 602 „hart" in ein mit Kohlensäure gefülltes Auffanggefäß.

Gewicht brutto		544,05 g
Tara		100,05 „
Maische		444,00 g
Trockensubstanz für 15 g	=	13,70 „
bleibt Lösungsflüssigkeit	=	430,30 g

Das Filtrat zeigt ein spez. Gew. von 1,0133 und, bei 105° getrocknet, für 20 ccm einen Rückstand von 0,340 g.

I. Es wurden 150 ccm Filtrat direkt mit 4,8 ccm Ammoniak neutralisiert, 1,5 ccm einer Lösung von citronensaurem Ammonium, welche in 100 ccm 50 g krystallisierte Citronensäure enthielt, und 43,7 ccm dest. Wasser hinzugefügt, worauf die Mischung mit 40 ccm Kalkessig gefällt wurde.

Gefunden 10,0 mg Glührückstand = 2,95 ccm $^n/_{10}$-Säure		
gleich	12,98 mg	Oxalation
Filtrat 240 ccm	0,80 „	„
Waschwasser 105 ccm	0,48 „	„
zusammen	14,26 mg	Oxalation

II. Es wurden 150 ccm Filtrat, welches genügend Salzsäure zur Spaltung der Oxalursäure enthielt, $^3/_4$ Stunden lang gekocht, abgekühlt, in ein mit einer Marke bei 200 ccm versehenes hohes Becherglas filtriert und so lange mit dest. Wasser nachgewaschen, bis daß etwa 180 ccm durchgelaufen waren. Darauf wurde mit 4,5 ccm Ammoniak neutralisiert, 1,5 ccm der Lösung von citronensaurem Ammonium zugefügt, die Flüssigkeit mit dest. Wasser auf 200 ccm ergänzt und mit 40 ccm Kalkessig gefällt.

Gefunden 10,8 mg Glührückstand = 3,28 ccm $^n/_{10}$-Säure		
gleich	14,43 mg	Oxalation
Filtrat 240 ccm	0,80 „	„
Waschwasser 125 ccm	0,57 „	„
zusammen	15,80 mg	Oxalation.

Der Unterschied zwischen I und II beträgt 1,54 mg Oxalation, er liegt also an der Grenze der möglichen Versuchsfehler.

Da ich aber bei den vielen Hunderten von Versuchen an den verschiedensten Stoffen die nötige Gewandtheit in der Bestimmung der Oxalsäure erlangt zu haben glaube, möchte ich dieses Plus an Oxalation nach dem Kochen mit Säure der Gegenwart von Oxalursäure auch in den Faeces zuschreiben.

Berechnung:

I. 150 ccm ursprüngliches Filtrat	152,0 g
enthielten an festen Stoffen	2,55 „
demnach Lösungsflüssigkeit	149,45 g

In 149,45 g Lösung sind 14,26 mg Oxalation, in 430,30 g 41,12, in 15 g Substanz ebenfalls 41,12, in 100 g Substanz 274,1 und in 100 g Trockensubstanz mithin 0,300% Oxalation, direkt gefunden.

II. In 149,45 g Lösungsflüssigkeit sind 15,80 mg Oxalation, in 430,30 g 45,49, in 15 g Substanz gleicherweise 45,49, in 100 g Substanz 303,2 mg, in 100 g Trockensubstanz also nach dem Kochen mit Säure 0,332% Oxalation.

Der Unterschied zwischen I und II beträgt 0,032%, daraus würde sich für die Trockensubstanz dieser Faeces ein Gehalt von 0,048% Oxalursäure errechnen.

Doch, wie schon bemerkt wurde, fehlt noch der qualitative Nachweis der Oxalursäure in den Faeces.

Studien über die Phyto-Hämagglutinine.

Von

V. K. Ruß und **E. Oesterlin.**

(Aus dem bakteriologisch-serologischen Laboratorium der hygienischen Untersuchungsanstalt des Volksgesundheitsamtes in Wien.)

(Eingegangen am 4. Dezember 1920.)

In den letzten Jahren ist das Studium der Phyto-Hämagglutinine, das ursprünglich für die Fortschritte auf dem Gebiete der Immunitätslehre — wir weisen nur auf die grundlegenden Arbeiten über die Wirksamkeit des Rizins, Abrins und Crotins hin — so außerordentlich bedeutsam war, etwas vernachlässigt worden. Namentlich jener Teil der Fragen, welcher sich auf die hämagglutinierende Wirkung der Extrakte von Leguminosen bezieht, erfuhr seit den Publikationen Landsteiners und seiner Mitarbeiter (besonders Raubitschek) eine nur spärliche Bearbeitung, wobei besonders auf die Mitteilungen von Wienhaus und Eisler und Portheim hingewiesen sei. Die beiden letztgenannten Autoren haben bei einer Reihe von verschiedenen Samenarten (vor allem kapselfrüchtiger Daturen) nach einer hämagglutinierenden Wirkung deren Extrakte gesucht und auch bei einzelnen eine solche feststellen können. Gelegentlich von Versuchen, welche von anderer Seite über die Zusammensetzung der Sojabohne und deren Verwertung als menschliches Nahrungsmittel in neuester Zeit gemacht wurden (Berczeller), haben wir genauere Prüfungen über die hämagglutinierende Wirkung von Extrakten aus Sojabohnen angestellt, da die diesbezüglichen Versuche von Wienhaus nur ganz allgemein gehalten sind. Diese Untersuchungen haben uns dann veranlaßt, uns mit den Phyto-Hämagglutininen im allgemeinen zu beschäftigen und nach neuen Tatsachen auf diesem Gebiete zu suchen, worüber im folgenden berichtet werden soll.

Die Sojabohne — die uns von Dr. Berczeller freundlichst zur Verfügung gestellten Früchte gehörten einer der vielen Varietäten der Glycine hispida Moench an, deren Heimat namentlich Asien ist — zeichnet sich gegenüber den in unseren Gegenden gezogenen Leguminosen besonders durch ihren außerordentlich hohen Fettgehalt aus. Analysen der verschiedensten Proben ergeben einen Fettgehalt von ca. 14—18%, ferner etwa 32—35% Stickstoffsubstanz und beiläufig ebensoviel stickstofffreie Extraktivstoffe, weiter 11—13% Wasser und endlich je 5% Rohfaser und Asche. Stärkere Schwankungen von diesen Durchschnittszahlen sind auf die Gegend, aus welcher die Sojabohnen stammen, zurückzuführen, insofern als besonders die klimatischen Verhältnisse eine ganz besondere Rolle zu spielen scheinen. Je weiter die Pflanzungen vom tropischen Klima entfernt sind, desto mehr sinkt der Fett- und Eiweißgehalt der Früchte, wenn sie überhaupt noch zur Reife gelangen (Berczeller).

Wir haben die zu prüfenden Extrakte nach zwei der gebräuchlichsten Methoden hergestellt:

Methode A: Vollkommen trockene Sojabohnen wurden in einem Mörser zu einem gleichmäßigen Pulver (etwa von Grieskorngröße) verrieben, dann davon 1 Teil mit 5 Teilen physiologischer Kochsalzlösung übergossen, gut durchgemischt und sodann für 36 Stunden in den Eisschrank gestellt, wobei wiederholt durchgeschüttelt wurde. Dann erfolgte eine Filtration durch Papier, wonach eine stark opaleszierende gelbliche Flüssigkeit resultierte.

Methode B: Von dem wie oben hergestellten Pulver werden 1 Teil mit 5 Teilen 11proz. Kochsalzlösung übergossen und dann wie früher weiter behandelt. Durch die Papierfiltration gewannen wir eine fadenziehende, gelbliche, stark opaleszierende Flüssigkeit.

Die ersten Prüfungsversuche wurden sofort nach der Fertigstellung der Extrakte vorgenommen.

Absteigende Mengen des Extraktes A verfüllten wir in kleine Proberöhrchen, ergänzten das Flüssigkeitsquantum mit physiologischer Kochsalzlösung auf je 1 ccm und versetzten jedes Röhrchen mit 1 ccm einer 5proz. Aufschwemmung von sorgfältig gewaschenen Kaninchenblutkörperchen. Bei der Auswertung des Extraktes B mußten wir naturgemäß durch Zusatz von destilliertem Wasser zuerst den Kochsalzgehalt auf die physiologische Menge bringen, indem wir den nativen Extrakt 13fach damit verdünnten und nun erst derartige Mengen davon in Proberöhrchen verfüllten, daß das Quantum der wirksamen Substanz und das Gesamtflüssigkeitsvolumen dasselbe war wie bei der Auswertung des Extraktes A. Auch hier erfolgte nun der Zusatz von 1 ccm 5proz. Kaninchenblutaufschwemmung, worauf alle angestellten Proben zuerst für 2 Stunden in den Thermostaten bei 37° kamen, nach welcher Zeit die erste Ablesung vorgenommen wurde, sodann

durch weitere 22 Stunden bei Zimmertemperatur stehenblieben, wonach die zweite Ablesung geschah.

Das Resultat dieser orientierenden Versuche ist aus der nachfolgenden Tab. I zu entnehmen:

Tabelle I.

Extraktmenge			0,01	0,005	0,001	0,0005	0,0001	0,00005	0,00001	Kontrolle
Extrakt nach Methode	A	nach 2h bei 37°	++	+	+	+	Spur	θ	θ	θ
		nach 22h bei 15°	+++	++	++	+	+	+	Spur	
	B	nach 2h bei 37°	++	++	+	+	θ	θ	θ	
		nach 22h bei 15°	++++	+++	++	++	+	+	+	

Aus dieser Zusammenstellung geht vor allem hervor, daß aus der Sojabohne ebenfalls Extrakte zu gewinnen sind, welche eine hämagglutinierende Wirkung auf Kaninchenblutkörperchen ausüben, und zwar zeigt es sich, daß durch die Extraktion mit 11 proz. Kochsalzlösung etwas mehr wirksame Stoffe erhalten werden, als durch die Auslaugung mit physiologischer Kochsalzlösung, wenngleich der Unterschied kein besonders auffälliger ist. Ferner ergibt sich, daß nach dem zweistündigen Verweilen der Proben bei 37° die Reaktion noch nicht abgelaufen ist, sondern nach weiterem Stehenlassen bei Zimmertemperaturen durch 22 Stunden sich noch eine erhebliche Erhöhung der wirksamen Titergrenze feststellen läßt.

Wir haben weiter zu prüfen versucht, ob eine vorherige gründlichere mechanische Aufschließung des Ausgangsmateriales auf den Gehalt des Extraktes an wirksamen Substanzen von wesentlichen Einfluß ist, bzw. ob bestimmte Teile der Bohnen mehr Hämagglutinine enthalten als andere.

Zu diesem Zwecke entfernten wir bei einem Teile der uns zur Verfügung stehenden Früchte die Schalen und zerstießen sodann die Bohnen im Mörser. Das entstandene Pulver wurde hierauf durch ein feinstes Seidensieb geschickt, wodurch wir einerseits ein sehr feines Mehl, andererseits ein gröberes Pulver (etwa von Grießkorngröße) gewannen (1 und 2 der Tabelle II). In ganz gleicher Weise behandelten wir nicht entschälte Sojabohnen (3 und 4 der Tabelle II) und hatten nun 4 Proben, aus welchen Extrakte nach der Methode A hergestellt wurden. Die Auswertung der Extrakte auf ihre hämagglutinierende Kraft erfolgte nun in der Weise, daß wir wieder zu

Tabelle II.

Nr.	Extrakt	Art der Herstellung	Abgelesen	Extrakt-Menge												Kontrolle
				0,01	0,0075	0,005	0,0025	0,001	0,00075	0,0005	0,00025	0,0001	0,000075	0,00005	0,000025	0,00001	
I	entschälte Sojabohnen	grob vermahlen	nach 6h	++	++	++	+	+	Spur	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
			nach 24h	++++	+++	+++	+++	++	++	+	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	
II		fein vermahlen	nach 6h	+++	+++	+++	++	++	+	+	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	
			nach 24h	++++	++++	+++	+++	++	++	+	+	Spur	θ	θ	θ	θ	
III	nicht entschälte Sojabohnen	grob vermahlen	nach 6h	+++	+++	+++	++	++	+	+	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	
			nach 24h	++++	++++	+++	++	++	++	+	+	+	Spur	Spur	θ	θ	
IV		fein vermahlen	nach 6h	+++	+++	++	++	+	+	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
			nach 24h	++++	++++	++++	+++	++	++	+	+	+	Spur	Spur	Spur	θ	

Tabelle III.

Nr.	Extrakt	Art der Herstellung	Abgelesen nach	Extrakt-Menge													Kontrolle
				0,1	0,075	0,05	0,025	0,01	0,0075	0,005	0,0025	0,001	0,00075	0,0005	0,00025	0,0001	
I	Linsen	fein vermahlen	12h im Eisschrank	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+	Spur	θ	θ	θ	θ
II		grob vermahlen		++++	++++	++++	+++	++	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
III	Erbsen	fein vermahlen		++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+	+	Spur	Spur	Spur	θ	
IV		grob vermahlen		++++	++++	++++	++++	+++	++	+	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	

absteigenden Mengen derselben je 1 ccm einer 2proz. Aufschwemmung von gewaschenen Kaninchenblutkörperchen zusetzten, worauf die Proben nach 6 und 24stündigem Verweilen lediglich im Eisschrank abgelesen wurden. Das Resultat zeigt nachstehende Tabelle II.

Das Ergebnis dieses Versuches gestattet vor allem den Schluß, daß die aus den entschälten Sojabohnen hergestellten beiden Extrakte an Wirksamkeit hinter den Extrakten, bereitet aus Früchten mit den Schalen stehen. Ferner ließ sich nachweisen, daß die gründlichere mechanische Aufschließung die Wirksamkeit der aus solchem Materiale hervorgegangenen Auszüge etwas erhöht. Den günstigen Einfluß dieses Verfahrens zeigt noch viel deutlicher ein anderer Versuch, bei welchem wir nach der Methode A hergestellte Extrakte aus nicht entschälten Linsen und Erbsen verwendeten, deren Wirksamkeit wir ebenfalls an 1 ccm einer 2proz. Aufschwemmung von gewaschenen Kaninchenblutkörperchen prüften, wobei wir allerdings das Resultat schon nach 12stündigem Verweilen der Proben im Eisschranke ablasen. Dasselbe findet sich in Tabelle III.

Eine Anzahl weiterer Versuche hatte den Zweck, den Einfluß höherer Temperaturen auf die wirksamen Substanzen der Extrakte festzustellen, wozu wir einerseits einen aus feinst vermahlenen Sojabohnen und einen ebenso nach der Methode A hergestellten Auszug aus gewöhnlichen weißen Bohnen (Amerikanische Perlbohnen) verwendeten.

Die Extrakte wurden in einer Menge von 1 ccm mit 9 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, in gleichstarke Eprouvetten verfüllt und nun im Wasserbade den gewünschten Temperaturen ausgesetzt. Sodann

Tabelle IV.

Extrakt aus	Temperatur	Zeit	Abgelesen nach	Extrakt- 0,1	0,075	0,05	0,025	0,01	0,0075
gewöhnlichen weißen Bohnen	60°	30′	6h	...	—	—	—	+++	+++
			24h	—	—	—	—	++++	++++
	80°	15′	6h	—	++++	++++	++++	+++	++
			24h	—	++++	++++	++++	+++	+++
	100°	5′	6h	θ	θ	θ	θ	θ	—
			24h	θ	θ	θ	θ	θ	—
Sojabohnen	60°	30′	6h	—	—	—	—	++	+
			24h	—	—	—	—	+++	+++
	80°	15′	6h	—	++	++++	+++	++++	++
			24h	—	+++	++++	+++	++++	+++
	100°	5′	6h	θ	θ	θ	θ	θ	—
			24h	θ	θ	θ	θ	θ	—

erfolgte die Auswertung in der schon früher angegebenen Weise an 1 ccm 2proz. Aufschwemmung gewaschener Kaninchenblutkörperchen. Die Ablesung der Resultate erfolgte nach 6- und 24stündigem Verweilen der Proben im Eisschranke. Wir geben in Tabelle IV das Protokoll eines dieser Versuche wieder.

Aus der Tab. IV geht hervor, daß die Einwirkung einer Temperatur von 60° durch 30 Minuten die hämagglutinierende Kraft der Extrakte nicht vermindert (wir hatten dieselben Auszüge am gleichen Tage gelegentlich eines anderen Versuches ohne vorherige Erwärmung ausgewertet und dabei dasselbe Resultat erhalten). Eine Temperatur von 80° durch 15 Minuten verursacht bereits eine bedeutende Verringerung der Extraktwirkung, während 5 Minuten dauerndes Erwärmen auf 100° dieselbe völlig aufhebt. Wir haben es also auch bei der Sojabohne zwar mit thermolabilen Hämagglutininen zu tun, doch ist die Resistenz derselben gegen Temperatureinflüsse eine recht bedeutende (s. a. Wienhaus). Etwas größer erscheint noch die Hitzebeständigkeit, wenn man zu den Erwärmungsversuchen nicht einen verdünnten, sondern den konzentrierten Extrakt anwendet, da in diesem Falle auch nach Erwärmen auf 100° durch 5 Minuten in den stärksten verwendeten Konzentrationen (0,1, 0,08 ccm) noch geringe Hämagglutination zu beobachten ist. Bemerkt sei noch, daß bei Benützung konzentrierter Extrakte auch beträchtliche Zustandsänderungen der Auszüge beobachtet werden, insofern bei 60° eine deutliche Trübung, bei 80° bereits ein leichter flockiger Niederschlag und bei 100° eine starke Koagulation der Extrakte nachweisbar ist, was wohl auf den relativ hohen Eiweißgehalt zurück-

Tabelle IV.

Menge										
0,005	0,0025	0,001	0,00075	0,0005	0,00075	0,0001	0,000075	0,00005	0,000025	0,00001
+++	+++	++	+	Spur	0	0	0	0	0	0
+++	++++	+++	+++	+	Spur	Spur	Spur	Spur	0	0
+	Spur	0	0	0	0	0	0	0	0	0
++	+	Spur	0	0	0	0	0	0	0	0
−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
+	+	+	+	Spur	0	0	0	0	0	0
+++	++	+	+	+	+	Spur	Spur	Spur	0	0
++	+	Spur	0	0	0	0	0	0	0	0
++	++	+	Spur	0	0	0	0	0	0	0
−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	·
−	−		−	−			−	−	−	·

geführt werden muß. (Wir haben bei so veränderten Extrakten vor der Auswertung durch gründlichstes Schütteln den entstandenen Niederschlag möglichst gleichmäßig verteilt.)

In allen bisher erwähnten Versuchen haben wir, wie bereits oben angedeutet, mit Aufschwemmungen von sorgfältig gewaschenem Kaninchenblut gearbeitet. Es schien uns nun interessant festzustellen, ob einerseits auch die Blutarten anderer Tiere von den Phyto-Hämagglutininen der Sojabohnen beeinflußt werden[1]), andererseits ob das an den Blutkörperchen haftende Serum eine hemmende Wirkung auf die Agglutination veranlaßt. Zu diesem Zwecke haben wir eine größere Versuchsreihe angestellt, in welcher wir die Blutarten verschiedener Tiere nebeneinander in gewaschenem und ungewaschenem Zustande gegenüber Sojabohnenextrakt prüften. Das diesbezügliche Resultat ist in der folgenden Tab. V zusammengestellt.

Die Tab. V zeigt, daß der Extrakt aus Sojabohnen von den geprüften Blutarten auf Menschen-, Kaninchen- und Meerschweinchen-Erythrocyten agglutinierend wirkt, während die Blutkörperchen von Pferd, Schaf, Ziege, Ratte und Maus unbeeinflußt bleiben. Die intensivste Verklumpung zeigen die Erythrocyten des Kaninchens und eine nicht viel geringere die des Meerschweinchens[2]). Weiters geht aus der Zusammenstellung hervor, daß ein wesentlicher Unterschied zwischen der Beeinflussung gewaschener und ungewaschener Blutkörperchen durch den Sojaextrakt nicht besteht. Immerhin fällt aber auf, daß das ungewaschene Pferdeblut doch eine geringradige Agglutinabilität zeigt, welche dem gewaschenen dieser Tierart völlig fehlt. Als Erklärung für diese Erscheinung dient wohl die von Landsteiner und Raubitschek gemachte Beobachtung, wonach durch Zusatz von Bohnenextrakt im Pferdeserum Niederschläge auftreten.

Auch beim Ziegenblut zeigen sich ähnliche Verhältnisse, wenngleich in noch geringerem Maße.

Hier sei noch ein Versuch erwähnt, welchen wir zur Klarstellung der Wirkung des Serums gut agglutinierbarer Blutarten auf inagglutinable Blutkörperchen angestellt haben: Wir digerierten gründlich gewaschene Hammel-

[1]) Wienhaus konnte eine solche für Kaninchen-, Hunde-, Katzen-, Tauben-, Meerschweinchen-, Schweine- und Hühnerblutkörperchen (absteigend geordnet nach dem Grad der Agglutinabilität) feststellen.

[2]) Nach Wienhaus werden Meerschweinchenblutkörperchen wesentlich schlechter agglutiniert als solche von Kaninchen.

Tabelle V.

Menge des Extraktes	Beobachtungszeit bei 7° C nach	Blutart															
		gewaschen								ungewaschen							
		Mensch	Pferd	Schaf	Ziege	Kaninchen	Meerschweinchen	Ratte	Maus	Mensch	Pferd	Schaf	Ziege	Kaninchen	Meerschweinchen	Ratte	Maus
0,1	4h	++	0	0	0	+++	++	0	0	+	0	0	0	+++	++	0	0
	24h	+++	0	0	0	++++	++	0	0	++	+	0	+	++++	+++	0	0
0,05	4h	++	0	0	0	+++	++	0	0	+	0	0	0	+++	++	0	0
	24h	+++	0	0	0	++++	++	0	0	++	+	0	0	++++	+++	0	0
0,01	4h	+	0	0	0	++	−	0	0	+	0	0	0	++	++	0	0
	24h	++	0	0	0	+++	+++	0	0	++	Spur	0	0	+++	+++	0	0
0,005	4h	+	0	0	0	++	+	·	·	+	0	0	0	++	++	·	·
	24h	++	0	0	0	+++	+++	·	·	+	0	0	0	+++	+++	·	·
0,001	4h	+	0	0	0	+	+	·	·	+	0	0	0	Spur	+	·	·
	24h	+	0	0	0	+	++	·	·	+	0	0	0	+	++	·	·
0,0005	4h	0	0	0	0	0	+	·	·	+	0	0	0	Spur	+	·	·
	24h	+	0	0	0	−	++	·	·	−	0	0	0	+	++	·	·
0,0001	4h	0	0	0	0	0	0	·	·	0	0	0	0	0	−	·	·
	24h	0	0	0	0	Spur	0	·	·	0	0	0	0	Spur	+	·	·
Kontrolle	4h	0	0	0	0	0	0	·	·	0	0	0	0	0	0	·	·
	24h	0	0	0	0	0	0	·	·	0	0	0	0	0	0	·	·

blutkörperchen mit einer entsprechenden Menge von Kaninchenserum (frisch zur Ader gelassener Tiere) durch 2 Stunden bei 37° und prüften nun die Wirkung des Sojaextraktes auf diese „sensibilisierten" Erythrocyten. Das Resultat war insofern ein völlig negatives, als auch jetzt die Hammelblutkörperchen selbst durch hohe Dosen von Sojaextrakt (1,0 ccm) nicht verklumpt wurden.

Wir haben nun weiterhin eine Reihe von Untersuchungen vorgenommen, welche sich nicht nur auf die Wirkung und Eigenschaften des Sojabohnenextraktes, sondern auf die von Extrakten anderer Leguminosen — in erster Linie der gewöhnlichen Bohnen — bezogen.

Zu diesem Zwecke stellten wir uns Auszüge aus verschiedenen Varietäten von Phaseolus vulgaris L. nach der oben beschriebenen Methode A her, die wir durch einen Toluolzusatz konservierten, wobei sich die agglutinatorische Kraft derselben recht lange Zeit unverändert erhält.

In erster Linie suchten wir uns davon zu überzeugen, ob und in welcher Weise die hämagglutinierende Substanz durch die gebräuchlichen Fällungsmittel (Ammonsulfat, Alkohol) beeinflußt wird. Daß dieselben fällbar sind, beschreiben bereits Landsteiner und Raubitschek und Wienhaus, ohne jedoch genauere Versuche anzuführen.

Fällbarkeit durch Ammonsulfat.

Je 100 ccm Extrakt aus Sojabohnen und aus gewöhnlichen weißen Bohnen (Sorte Perlbohnen) werden mit je 20 g Ammonsulfat in Substanz versetzt und solange digeriert, bis das Ammonsulfat sich völlig gelöst hat. Sodann wird die gewonnene Flüssigkeit (Fl der folgenden Tabelle) durch gehärtete Filter filtriert, wodurch ein Filtrat (Fi der folgenden Tabelle) entsteht und ein Rückstand (R der folgenden Tabelle) gewonnen wird. Letzteren lösten wir in 20 ccm destilliertem Wasser.

Je 90 ccm der oben gewonnenen Filtrate Fi versetzten wir nun mit je 13,5 g Ammonsulfat in Substanz und digerierten wieder bei 37° bis zur völligen Lösung des Fällungsmittels, worauf wir diese Flüssigkeit (Fl_1 der folgenden Tabelle) durch Filtration wie oben in ein Filtrat (Fi_1) und einen Rückstand (R_1) trennten, welch letzterer wieder in 20 ccm Aqua dest. gelöst wurde.

Zu je 80 ccm der Filtrate Fi_1 fügten wir nun je 12 g Ammonsulfat in Substanz zu, gewannen nach Digerierung bei 37° eine Flüssigkeit (Fl_2), die abermals filtriert wurde und uns ein Filtrat (Fl_2) und einen Rückstand (R_2) gab, den wir wieder in 20 ccm destilliertem Wasser lösten.

Nun wurden wieder je 70 ccm der erhaltenen Filtrate Fi_2 mit je 17,5 g Ammonsulfat in Substanz versetzt und nach Digerierung bei 37° eine Flüssig-

keit Fl_3 gewonnen, deren Filtration ein Filtrat (Fi_3) und einen Rückstand R_3 ergab. Diesen lösten wir abermals in 20 ccm Aqua dest.

Durch die verschiedenen fortlaufenden Ammonsulfatzusätze hatten wir also aus den ursprünglichen 100 ccm der beiden Extrakte verschiedene Fraktionen gewonnen, in welchen wir nun den Gehalt an Hämagglutininen zu bestimmen hatten. Vorerst mußten wir das Ammonsulfat durch Dialyse beseitigen, was wir in der Weise veranlaßten, daß wir je 2 ccm der Filtrate bzw. der Rückstandlösungen in Dialysierhülsen (Schleicher-Schüll Nr. 579A) füllten und gegen destilliertes Wasser durch mehrere Tage dialysierten. Sodann entnahmen wir die gesamte Flüssigkeit aus den Dialysierhülsen, fügten zu jeder Probe so viel Natrium chlor. in Substanz zu, daß ihr Kochsalzgehalt ein physiologischer wurde und schritten nun an die Auswertung der einzelnen Flüssigkeiten auf ihren Hämagglutiningehalt, wobei wir uns einer 5proz. Aufschwemmung von gewaschenem Kaninchenblut bedienten.

Als Kontrolle hatten wir 2 ccm des verwendeten Originalextraktes in ganz gleicher Weise dialysiert und weiter behandelt, wie wir es eben für die übrigen Flüssigkeiten beschrieben haben.

Die Tabelle VI läßt einerseits die bemerkenswerten Zustandsänderungen nach den verschiedenen Ammonsulfatzusätzen, sowie den Hämagglutiningehalt der einzelnen Flüssigkeiten erkennen. Es bedarf wohl keiner besonderen Erwähnung, daß wir bei der Auswertung die Volumänderungen stets in Rechnung gezogen haben. Die für die Mengen angegebenen Zahlen entsprechen denen des Originalextraktes.

Aus der voranstehenden Tabelle ergibt sich, daß die hämagglutinierend wirkenden Substanzen sowohl in den Sojabohnen- wie auch in den Perlbohnenextrakten in jener Fraktion zu finden sind, welche durch Zusatz von 50 Volumprozenten Ammonsulfat ausfallen, während sie durch einen Zusatz von 20 bzw. 30 Vol.-% des Fällungsmittels nicht aus dem Extrakt zu entfernen sind. Weiter erkennt man aus der Zusammenstellung, daß entsprechend dem höheren Eiweißgehalt der Sojabohne der Ammonsulfatzusatz ganz wesentlich größere Niederschläge hervorruft als bei der Perlbohne. Daß bei diesen Versuchen geringe quantitative Schwankungen zu beobachten sind, ist bei der verwendeten ziemlich groben Methodik nicht zu verwundern, ferner auch auf den Umstand zurückzuführen, daß die wirksamen Substanzen bis auf einem gewissen Grade dialysabel sind (Landsteiner und Raubitschek) wodurch auch Verluste erklärt erscheinen.

Die hämagglutinierenden Substanzen der Sojabohne scheinen durch den Ammonsulfatzusatz mit jenem Protein ausgefällt zu werden, welches Osborne und Campbell als Glycinin bezeichnen; die der gewöhnlichen Bohne liegen innerhalb der Fällungsgrenzen des Phaseolin (Osborne).

Tabelle VI.

Material		Original-extrakt	Original-extrakt dialysiert	Ammonsulfatzusatz													
				20%			35%			50%			75%					
				Fl	Fi	R	Fl_1	Fi_1	R_1	Fl_2	Fi_2	R_2	Fl_3	Fi_3	R_3
Sojabohnen	Zustandsänderung	gelblich gefärbt — opaleszierend	Trübung, feiner Niederschlag	Dichte milchige Trübung, dann flockiger Niederschlag	fast klar gelblich	reichlich, gelblich	dichte milchige Trübung, feiner flockiger Niederschlag	klar, gelblich	reichlich, weiß	mäßig dichte Trübung	klar, fast wasserhell	mäßig reichlich weiß	geringe Trübung	wasserhell	spärlich weiß
	0,1	++	++	−	++	θ	−	++	θ	−	θ	Spur	−	θ	θ
	0,005	++++	++	−	++	θ	−	++	θ	−	θ	+	−	θ	θ
	0,05	++++	++	−	++	θ	−	++	θ	−	θ	++	−	θ	θ
	0,1	++++	++	−	++	θ	−	++	θ	−	θ	++	−	θ	θ
	Hämagglutinine in														
Perlbohnen	Zustandsänderung	leicht gelblich gefärbt opaleszierend	Trübung, geringer Niederschlag	fast keine Trübung	klar, wasserhell	sehr gering weißgrau	geringe Trübung	klar, wasserhell	gering, dunkelgrau	geringe Trübung	klar, wasserhell	mäßig reichlich, grau	mäßige Trübung, feiner Niederschlag	klar, wasserhell	mäßig reichlich, grau
	0,01	++++	++++	−	++++	θ	−	++++	θ	−	θ	++++	−	θ	θ
	0,05	++++	++++	−	++++	θ	−	++++	θ	−	θ	++++	−	θ	θ
	0,1	++++	++++	−	++++	θ	−	++++	+	−	θ	++++	−	θ	θ
	Hämagglutinine in														

Fällbarkeit durch Alkohol.

Wir versetzten je 10 ccm eines Extraktes aus Sojabohnen bzw. Perlbohnen (Phaseolus) mit je 10 ccm absolutem Alkohol, wodurch in beiden Proben sofort eine dichte Trübung und nach wenigen Stunden ein reichlicher flockiger Niederschlag entstand. Sodann filtrierten wir beide Proben durch ein feuchtes gehärtetes Filter und gewannen so je ein Filtrat und je einen Rückstand, welch letzteren wir in 20 ccm physiologische Kochsalzlösung brachten, woselbst er sich völlig löste und eine leicht opaleszierende Flüssigkeit ergab.

Um den Einfluß der dabei in Betracht kommenden Alkoholmengen auf die roten Blutkörperchen festzustellen, mengten wir als Kontrolle 10 ccm des absoluten Alkohols mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Als eine weitere Kontrolle diente uns eine Verdünnung von je 10 ccm der Originalextrakte mit je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Von allen 5 Proben wurden nun entsprechende Mengen in Röhrchen verfüllt, die Flüssigkeitsmenge auf je 1 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung gebracht und nun 1 ccm einer 2 proz. Aufschwemmung von gewaschenen Kaninchenblutkörperchen in jedes Röhrchen verfüllt. Das in der nachstehenden Tabelle VII verzeichnete Resultat wurde nach 12stündigem Stehen des Versuches im Eisschranke abgelesen.

Wir ersehen aus der voranstehenden Tabelle, daß sowohl die hämagglutinierenden Substanzen der Sojabohne als auch die der Perlbohne durch Alkohol fällbar sind. Bei letzteren gehen sie fast völlig restlos in den Niederschlag über, während im Filtrate des mit Alkohol versetzten Sojaextraktes noch geringe Mengen von wirksamen Stoffen zurückbleiben. Daß die verwendeten Alkoholverdünnungen keinen Einfluß auf die Hämagglutination ausüben, ersehen wir aus der völlig negativen Kontrollreihe.

Verhalten gegenüber Behandlung mit Aether sulfuricus.

Der reiche Fettgehalt der Sojabohnen legte uns die Möglichkeit nahe, daß derselbe in gewisser Hinsicht an der hämagglutinierenden Wirkung der Extrakte nicht ganz unbeteiligt sei, zumal da uns ja der obige Versuch lehrte, daß nach Alkoholzusatz — einem doch fettlösenden Substrate — gewisse Mengen der wirksamen Substanzen in das Filtrat übergehen. Wir haben daher eine Versuchsreihe angestellt, welche uns darüber näheren Aufschluß geben sollte.

Je 10 ccm des schon zum früheren Versuche verwendeten Sojabohnen- bzw. Perlbohnenextraktes werden mit je 20 ccm reinstem Aether sulfuricus (pro narcosi) versetzt und kräftig durchgeschüttelt. Es entsteht nach kurzer Zeit ein flockiger Niederschlag. Nach einigem Stehen setzt sich der Äther

Tabelle VII.

Extrakt	Materiale	Menge										
		0,1	0,075	0,05	0,025	0,01	0,0075	0,005	0,0025	0,001	0,00075	0,0005
Sojabohnen	Originalextrakt (1 : 1 phys. NaCl)	++++	++++	+++	+++	++	++	++	+	θ	θ	θ
	Filtrat	+++	++	+	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
	Rückstandlösung	+++	+++	++	+	+	+	Spur	Spur	θ	θ	θ
Perlbohnen	Originalextrakt (1 : 1 phys. NaCl)	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	Spur	θ	θ
	Filtrat	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
	Rückstandlösung	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	θ	θ	θ
	Alkoholverdünnung (1 : 1 phys. NaCl)	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Tabelle VIII.

Extrakt	Materiale	Menge										
		0,1	0,075	0,05	0,025	0,01	0,0075	0,005	0 0025	0,001	0,00075	0,0005
Sojabohnen	Originalextrakt	++++	++++	+++	+++	++	++	++	+	θ	θ	θ
	Filtrat	++++	+++	+++	++	+	+	Spur	Spur	θ	θ	θ
	Niederschlag	+	+	+	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
Perlbohnen	Originalextrakt	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	Spur	θ	θ
	Filtrat	++++	++++	++++	++++	+++	++	++	+	θ	θ	θ
	Niederschlag	+++	+++	++	+	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	θ
	Phys. Kochsalzlösung mit Äther behandelt	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ

in den Proberöhrchen oben auf völlig klar ab, während die untere Flüssigkeitsmenge die wolkige Trübung weiter beibehält. Wir heberten nun mit einer Kapillarpipette den Äther möglichst restlos ab und ließen die Proberöhrchen durch 4 Tage bei Zimmertemperatur stehen, um auch den letzten Rest des Äthers auf diese Weise zur Verdampfung zu bringen. Danach wurde der Inhalt der Röhrchen, welcher sich in seinem Aussehen in keiner Weise weiter verändert hatte, durch ein feuchtes gehärtetes Filter filtriert, was die Gewinnung eines klaren Filtrates und eines nicht unbeträchtlichen Rückstandes zur Folge hatte, welch letzteren wir vom Filter sorgfältig abhoben und in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufnahmen. Es entstand dadurch eine trübe Flüssigkeit. Als eine Kontrolle diente uns eine Probe von 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung, versetzt mit Äther und in gleicher Weise weiter behandelt wie die Extraktproben.

Als fernere Kontrollen hatten wir je 10 ccm jedes Extraktes in Röhrchen verfüllt und unter den gleichen Bedingungen stehen gelassen, wie wir sie für die mit Äther versetzten Extraktproben angeführt haben.

Nach vollendeter Verdampfung des Äthers in den einzelnen Proben erfolgte sodann die Auswertung der gewonnenen Flüssigkeiten in der gleichen Weise wie im vorhergehenden Versuche. Das Ergebnis lasen wir nach 12stündigem Stehen aller Proben im Eisschranke ab und verzeichneten es in der Tabelle VIII.

Man ersieht nun aus der voranstehenden Tabelle, daß die Filtrate an Menge der hämagglutinierenden Stoffe nur wenig verloren hatten, d. h. daß bei dieser Methode der Entfettung kein Defizit an wirksamen Substanzen aufgetreten war. Daß aber dennoch größere Mengen von Fettkörpern — namentlich aus dem Sojabohnenextrakte — durch die Vorbehandlung in den Äther übergegangen waren, ergab sich aus dem Umstande, daß wir nach Verdampfung des Äthers bei 37° am Wasserbade ein ziemlich reichliches Quantum einer geblichen, schmierigen, wasserunlöslichen Masse erhielten. Wir versuchten daraus eine möglichst feine Emulsion in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung herzustellen, welche wir dann auf ihre hämagglutinierende Wirkung gegenüber einer 2proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen prüften. Das Resultat war jedoch ein völlig negatives, obwohl wir auch hohe Dosen der Emulsion (1 ccm) daraufhin untersuchten.

Aus diesen Versuchsergebnissen müssen wir wohl den Schluß ziehen, daß die Hämagglutinine mit den Fettsubstanzen der Leguminosen in keinem besonderem Zusammenhange stehen.

Anhangsweise seien hier noch Versuche erwähnt, welche darauf hinzielten, zu prüfen, ob nur in den Früchten der Phaseolusarten oder auch in sonstigen Bestandteilen der Pflanze die Hämagglutinine enthalten seien.

Zu diesem Zwecke pflanzten wir Perlbohnen im Garten an und nahmen dann von den ausgewachsenen Pflanzen sowohl junge Schößlinge als auch alte Blätter ab, die wir in physiologischer Kochsalzlösung fein verrieben, worauf wir die grüne Flüssigkeit völlig klar filtrierten. Von dem Filtrat wurden dann abgestufte Mengen mit je 1 ccm einer 2 proz. Aufschwemmung von gewaschenem Kaninchenblut versetzt und durch 24 Stunden im Eisschranke stehen gelassen. Es zeigte sich auch nicht die geringste Spur von Hämagglutination.

Ein nicht uninteressantes Resultat ergaben Versuche mit Extrakten, die wir aus gekeimten Bohnen herstellten. Eine Anzahl von Perlbohnen wurde in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier gelegt und in den Thermostaten bei 37° gehalten, wobei auf ständige Feuchtigkeit geachtet wurde. Nach 8 Tagen war ein Teil der Bohnen ausgekeimt, ein anderer Teil zeigte keine Keime, war aber verschimmelt. Die gekeimten Bohnen wurden nun von den Keimlingen durch Auslösen befreit und nun je 20 g der Keimlinge, wie der Bohnenreste feinst verrieben und sodann mit je 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung durch 24 Stunden im Eis extrahiert. Hierauf erfolgte die Filtration durch Papier und die Auswertung der beiden Extrakte mit 1 ccm einer 2 proz. Aufschwemmung von gewaschenem Kaninchenblut. Nach sechsstündigem Aufenthalte der Versuchsreihen im Eiskasten wurde das Resultat abgelesen, wie es in der nachfolgenden Tabelle IX verzeichnet ist.

Es ist sicherlich außerordentlich auffallend, daß der Extrakt aus den Keimlingen in weitaus höheren Verdünnungen Hämagglutionation bewirkt als der Originalextrakt aus den trockenen Bohnen, da wir ja bei ersteren noch in Rechnung ziehen müssen, daß der Wassergehalt der Keimlinge ein wesentlich höherer ist, was doch einer an sich stärkeren Verdünnung der Hämagglutinine im Ausgangsmateriale gleichkommt. Interessant ist auch das Ergebnis, daß die Reste der gekeimten Bohnen sehr wenige Hämagglutinine enthalten, so daß es den Anschein hat, als würden diese Substanzen von ihnen an die Keimlinge abgegeben worden sein.

Wir werden diese Erscheinung noch weiter verfolgen und hoffen dann Genaueres darüber berichten zu können.

Schließlich wollen wir noch über einige Versuche berichten, welche wir hinsichtlich der Herstellung und Wirkung von antihämagglutinierenden Immunseris angestellt haben, wie sie gegen Bohnen- und Linsenextrakte von Landsteiner wie auch von Raubitschek gewonnen wurden.

Wir haben durch längere Zeit hindurch Kaninchen mit subcutanen Injektionen von Extrakten aus Sojabohnen und Perlbohnen vorbehandelt, bei den Tieren dann jeweils einen Aderlaß gemacht und das Serum auf seine hemmende Wirkung der hämagglutinierenden Kraft der Extrakte geprüft.

Wie wir schon aus den früheren vergleichenden Untersuchungen mit gewaschenem und ungewaschenem Blute wissen, zeigt es sich, daß das Kaninchenserum normalerweise keinen hemmenden

Tabelle IX.

Materiale	Extrakt-Menge												
	0,1	0,075	0,05	0,025	0,01	0,0075	0,005	0,0025	0,001	0,00075	0,0005	0,00025	0,0001
Originalextrakt aus trockenen Bohnen	+ + +	+ + + +	+ + +	+ + +	+ +	+ + + +	+ +	+	0	0	0	0	0
Extrakt aus Keimlingen	+ + +	+ + + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	0	0
Extrakt aus von Keimlingen befreiten Bohnen	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	Spur	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle X.

Extrakt	Serum-Art	Serum-Menge											
		0,5	0,25	0,1	0,075	0,05	0,025	0,01	0,0075	0,005	0,0025	0,001	Kontrolle
Sojabohnen 0,001 ccm	Sojabohnen-Immunserum Kaninchen Nr. 54	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+ +	
	Perlbohnen-Immunserum Kaninchen Nr. 22	Spur	+	+	+	+	+ +	+ +	+ +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
	Normales Kaninchenserum	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	
Perlbohnen 0,001 ccm	Perlbohnen-Immunserum Kaninchen Nr. 22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	
	Sojabohnen-Immunserum Kaninchen Nr. 54	0	0	0	0	0	Spur	Spur	+	+	+ +	+ +	+ + +
	Normales Kaninchenserum	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+	

Einfluß auf die Hämagglutination durch Leguminosenextrakte ausübt.

Der in der vorstehenden Tabelle X verzeichnete Versuch ergibt, daß es tatsächlich gelungen ist, durch Immunisierung von Kaninchen mit Sojabohnen- bzw. Perlbohnenextrakten ein Serum zu gewinnen, welches ganz spezifische hemmende Eigenschaften aufweist.

Zu 0,001 ccm eines hochwirksamen Sojabohnen- bzw. Perlbohnenextraktes werden absteigende Mengen des Serums von Kaninchen Nr. 22 (vorbehandelt mit Perlbohnenextrakt), bzw. Nr. 54 (vorbehandelt mit Sojabohnenextrakt) zugefügt, die Gemenge gut durchgeschüttelt und für 1 Stunde bei 37° gehalten. Sodann wird 1 ccm einer 2proz. Aufschwemmung von gewaschenem Kaninchenblut beigegeben und hierauf alle Proben in den Eisschrank gestellt. Die Ablesung erfolgte nach 24 Stunden.

Wir sehen also, daß die Wirksamkeit des Immunserums gegenüber dem zugehörigen Antigen eine recht beträchtliche ist, wobei wir allerdings bemerken müssen, daß es gelang, gegenüber den hämagglutinierenden Substanzen aus Phaseolus ein besser wirkendes Immunserum zu erzielen als gegenüber denen aus Glycine. Weiter konnten wir aber auch feststellen, daß die Hämagglutinine aus Perlbohnen nicht völlig identisch sind mit denen aus den Sojabohnen, denn das Immunserum des mit Sojaextrakt vorbehandelten Tieres neutralisierte die Wirksamkeit des Sojaextraktes weitaus intensiver als die des Perlbohnenextraktes und umgekehrt.

Mit diesen Beobachtungen deckt sich auch ein Präzipitationsversuch, den wir mit unserem Immunseris gegenüber den Extrakten aus Sojabohnen, Perlbohnen, sowie ferner aus Linsen und Erbsen angestellt haben und welcher in der folgenden Tabelle XI zusammengestellt erscheint.

Wir unterschichteten absteigende Dosen der verschiedenen Extrakte mit je 0,1 ccm der Immunsera und beobachteten zuerst die Ringbildung, dann wurde die Niederschlagsbildung nach einstündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur und schließlich nach 24stündigem Verweilen im Eisschranke abgelesen (× × × × = massiver, × × × = deutlicher, × × = geringer Niederschlag, × = Trübung, st. R. = starke Ringbildung, schw. R. = schwache Ringbildung).

Endlich haben wir noch versucht festzustellen, ob die Blutkörperchen der beiden immunisierten Kaninchen sich hinsichtlich ihrer Agglutinationsfähigkeit anders verhalten als die Erythrocyten normaler Tiere der gleichen Spezies.

Tabelle XI.

Nr.	Extrakt	Serumart	Beobachtungszeit	Extrakt-Menge 0,1	0,05	0,01	0,005	0,001
I	Sojabohnen	Sojabohnen-Immunserum	sofort	×	st. R.	schw. R.	0	0
			nach 1h	××	×	Spur ×	Spur ×	0
		KaninchenNr.54	nach 24h	×××	××	×	×	0
II		Perlbohnen-Immunserum	sofort	0	0	0	0	0
			nach 1h	0	0	0	0	0
		KaninchenNr.22	nach 24h	0	0	0	0	0
III	Perlbohnen	Sojabohnen-Immunserum	sofort	0	0	0	0	0
			nach 1h	Spur ×	Spur ×	0	0	0
		KaninchenNr.54	nach 24h	Spur ×	Spur ×	0	0	0
IV		Perlbohnen-Immunserum	sofort	×	st. R.	schw. R.	0	0
			nach 1h	×××	×××	×	Spur ×	0
		KaninchenNr.22	nach 24h	×××××	×××××	×××	××	0
V	Linsen	Sojabohnen-Immunserum	sofort	0	0	0	0	0
			nach 1h	0	0	0	0	0
		KaninchenNr.54	nach 24h	0	0	0	0	0
VI		Perlbohnen-Immunserum	sofort	0	0	0	0	0
			nach 1h	0	0	0	0	0
		KaninchenNr.22	nach 24h	0	0	0	0	0
VII	Erbsen	Sojabohnen-Immunserum	sofort	0	0	0	0	0
			nach 1h	0	0	0	0	0
		KaninchenNr.54	nach 24h	0	0	0	0	0
VIII		Perlbohnen-Immunserum	sofort	0	0	0	0	0
			nach 1h	0	0	0	0	0
		KaninchenNr.22	nach 24h	0	0	0	0	0

Zu diesem Zwecke befreiten wir das geschüttelte Blut der Kaninchen Nr. 22 und Nr. 54 sowie eines normalen Tieres durch oft wiederholtes Waschen auf der Zentrifuge möglichst sorgfältig vom anhaftenden Serum und stellten dann mit absteigenden Mengen eines Extraktes aus Sojabohnen bzw. Perlbohnen Versuchsreihen auf, zu denen wir dann die Blutkörperchen der genannten Tiere in 2proz. Aufschwemmung (1 ccm) zufügten.

Es ließ sich bei diesem Versuche nicht der geringste Unterschied in der Agglutinabilität der Blutkörperchen der immunisierten Tiere und des normalen Kaninchens feststellen, gleichgültig ob wir die homologen (Sojaextrakt + Blutkörperchen Kaninchen Nr. 54, bzw. Perlbohnenextrakt + Blutkörperchen Kaninchen Nr. 22) oder die heterologen (Sojaextrakt + Blutkörperchen Kaninchen Nr. 22, bzw. Perlbohnenextrakt + Blutkörperchen Kaninchen Nr. 54) Extrakte verwendeten.

Zusammenfassung.

1. Die Sojabohne — Glycine hispida — enthält Substanzen, welche auf Blutkörperchen verschiedener Tierarten agglutinierend einwirken.

2. Die Gewinnung wirksamer hämagglutinierender Extrakte aus Leguminosen ist von dem Grade der mechanischen Aufschließung der Früchte wesentlich abhängig.

3. Die hämagglutinierenden Substanzen der Leguminosen sind nur in geringem Grade thermolabil, sie werden durch Temperaturen von 60° in der Dauer von $^1/_2$ Stunde gar nicht, durch 15 Minuten währendes Erwärmen auf 80° nur mäßig abgeschwächt und erst durch 5 Minuten langes Halten bei 100° vernichtet.

4. Die hämagglutinierenden Substanzen der Leguminosen sind durch Ammonsulfat und Alkohol fällbar.

5. Es gelingt nicht, die Phyto-Hämagglutinine gleichzeitig mit den Fettstoffen durch Äther zu extrahieren.

6. Die Hämagglutinine der Leguminosen sind nur in den Früchten enthalten, scheinen aber beim Auskeimen von der Frucht in die Keimlinge überzugehen.

7. Durch Immunisierung von Tieren mit wirksamen Extrakten gelingt es, ein Immunserum herzustellen, welches gegenüber dem homologen Extrakte spezifische antihämagglutinierende und präzipitierende Eigenschaften aufweist. Zwischen den Eiweißarten von Sojabohnen, Perlbohnen, Linsen und Erbsen bestehen auf Grund der Präzipitationsversuche keine verwandtschaftlichen Beziehungen.

8. Die vom anhaftenden Blutserum sorgfältig befreiten Blutkörperchen mit Extrakten immunisierter Kaninchen sind ebenso agglutinabel wie die normaler Tiere der gleichen Spezies.

Literatur.

v. Eisler und v. Portheim, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **1**. 1909. — Landsteiner, Oppenheimers Handb. d. Biochemie II/1, Fischer, Jena 1910. — Landsteiner und Raubitschek, Zentralbl. f. Bakt. Orig. **45**. 1908. — Osborne, Journ. Amer. Chem. Soc. **16**. 1894. — Osborne, Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. II, Urban & Schwarzenberg 1910. — Osborne und Campbell, Journ. Amer. Chem. Soc. **20**, 1898. — Raubitschek, Wiener klin. Wochenschr. 1909, Nr. 50. — Raubitschek, Handb. d. Techn. u. Meth. d. Immun. F., Ergänz.-Bd. Kraus-Levaditi, Fischer, Jena 1910. — Wienhaus, Biochem. Zeitschr. **18**, 1909.

Anpassung einer Oberhefe an das Gärsubstrat Galaktose.

Von

H. v. Euler, I. Laurin und **A. Pettersson.**

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)

(Eingegangen am 6. Dezember 1920.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Zur Aufklärung des Wesens der Variationen und Mutationen dürfte es besonders geeignet sein, bei einzelligen Organismen den zeitlichen Verlauf der Anpassung an Nährsubstrate zu studieren, welcher unter meßbarer Veränderung der entsprechenden Enzyme eintritt. Bei Mikroorganismen wie Hefen liegen die biologischen Verhältnisse besonders übersichtlich, und andererseits lassen sich sowohl Anpassungsbedingungen als die erreichten Änderungen quantitativ festlegen, und wenn auch die chemische Grundfrage, durch welche Reaktionen ein Substrat die Bildung des zugehörigen Enzyms hervorruft, erst dann gelöst werden kann, wenn die Konstitution des Enzyms bekannt ist, so stehen doch Variationsursache und Variationseffekt hier in unmittelbarerer Beziehung als bei den meisten anderen studierten Fällen von Variation.

Nachdem Euler und Johansson[1]) 1912 gefunden hatten, daß die Anpassung einer Hefe an Galaktose unter bestimmten Umständen gut reproduzierbar und regelmäßig verläuft, wurde der Frage näher getreten, wie konstant die Hefe ihre so erworbene Eigenschaft der Galaktosevergärung beibehält.

[1]) Euler und Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chemie 78, 246. 1912. — Siehe daselbst auch die Besprechung der früheren Arbeiten von Dubourg und Dienert.

Von den älteren Arbeiten über Galaktosevergärung durch Hefe seien besonders erwähnt: Slator, Journ. Chem. Soc. 93, 217. 1908. — Harden und Norris, Proc. Roy. Soc. 82, 645. 1910.

Einige Versuche sind bereits von **Euler und Johansson** angestellt worden. So wurde eine Hefe mit Galaktose 92 Stunden in folgender Lösung vorbehandelt:

im Liter $\begin{cases} 0{,}25\text{ g } MgSO_4 & 4{,}0\text{ g Asparagin} \\ 5{,}0\text{ g } KH_2PO_4 & 20{,}0\text{ g Zucker} \end{cases}$ Nährlös. „L".

Die vorbehandelte Hefe wurde hierauf 4 Stunden bzw. 71 Stunden mit Glucose weiter behandelt. Dabei hat sich folgendes ergeben:

Mit Galaktose 92 Std. vorbehandelte Hefe		Mit Galaktose 94 Std. und dann mit Glucose 4 Std. vorbehandelte Hefe		Mit Galaktose 92 Std. und dann mit Glucose 71 Std. vorbehandelte Hefe	
Gärung in		Gärung in		Gärung in	
a Galaktose	b Glucose	a Galaktose	b Glucose	a Galaktose	b Glucose
78	118,5	65	96	40	85
$\frac{b}{a} = 1{,}50$		$\frac{b}{a} = 1{,}48$		$\frac{b}{a} = 2{,}14$	

Die kurze vierstündige Gärung in Glucose hat also die erworbene Fähigkeit zur Galaktosevergärung noch unverändert gelassen. Die 71stündige Behandlung mit dem natürlichen Nährsubstrat hat die Anpassung an die Galaktose zum Teil wieder aufgehoben.

Eine längere Versuchsreihe, ebenfalls mit Unterhefe, ist später von **Euler und Emberg**[1]) angestellt worden. Es ergab sich dabei die nebenstehende Kurve: Dieselbe läßt sich in zwei Teile zerlegen. Der erste Teil wurde als eine Induktion aufgefaßt, und zwar unter folgender Annahme: Für die Geschwindigkeit der Abnahme der Galaktosewirkung wird ein Einfluß maßgebend

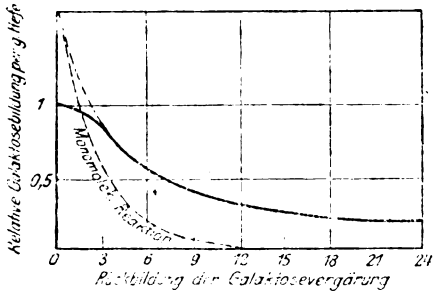


Abb. 1.

sein, in Vergleich zu welchem die Abnahme der Konzentration des Galaktosemoleküls keine Rolle spielt. Der zweite Teil der Kurve entspricht dem Verlauf einer dimolekularen Reaktion, bei welcher die beiden Komponenten die gleiche Anfangskonzentration besitzen. Hieraus läßt sich der Schluß ziehen, daß gleichzeitig zwei Stoffe verschwinden. Die Weiterführung dieser Versuche ist dann

[1]) Euler, Zeitschr. f. Elektrochemie **24**, 173. 1918.

leider durch das Ableben von Dr. Emberg bis jetzt nicht zur Ausführung gekommen. Sie sollen zunächst insofern auf eine breitere Basis gestellt werden, als in erster Linie die Abhängigkeit der Anpassung von äußeren Bedingungen vollständiger untersucht werden soll, als es bisher geschehen war.

Experimentelles.

Die hier mitgeteilten Versuche wurden — mit wenigen Ausnahmen, die angegeben sind — mit Oberhefe SB II ausgeführt, welche wir in reinem Zustand von Stockholms Södra Jästfabrik erhalten haben.

Die Gärung wurde durchweg volumetrisch verfolgt. Vor Beginn der Gärung wurden die Lösungen mit CO_2 gesättigt. Die Gärungskolben befanden sich in einem Thermostaten, der in der Nähe von 30° gehalten wurde.

Die Zahlen der Tabellen sind Mittelwerte aus mindestens zwei Parallelversuchen. Besonderes Gewicht wurde auf die Reinheit der Galaktosepräparate gelegt, da in zahlreichen älteren Arbeiten auffallende Ergebnisse durch den Glucosegehalt anderer Zuckerarten vorgetäuscht worden sind.

Die Zellenzählungen wurden in einer Thoma-Zeißschen Rechenkammer vorgenommen.

I. Verhältnis der Galaktose- und Rohrzuckervergärung mit nicht vorbehandelter Oberhefe (A. Pettersson).

Die in jeder Tabelle verglichenen Galaktose- und Rohrzuckervergärungen sind gleichzeitig angestellt worden. Die gärenden Lösungen enthielten unabhängig von der Zuckerart 1% PO_4, durch Zusatz von HCl auf die Acidität $p_H = 5$ gebracht. Jeder Kolben enthielt 25 ccm Lösung und 0,25 g Hefe, deren Trockengewicht bei jedem Versuch angegeben ist. Zur Zellenzählung wurde jedesmal 0,25 g Hefe in 25 ccm 0,05 n-HCl aufgeschlämmt.

Versuch 1: Temp. 30°. Zellenzahl $3{,}5 \cdot 10^9$.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	2,1	2,6	2,7	2,7	2,8
ccm CO_2					
Rohrzucker	11,0	22,6	36,5	48,0	59,6

Versuch 2: Temp. 30°. Zellenzahl $2{,}2 \cdot 10^9$. Trockensubst. d. Hefe 25,2%.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	1,9	2,3	2,6	2,6	2,6
ccm CO_2					
Rohrzucker	8,8	20,0	31,2	39,8	51,4

Versuch 3: Temp. 30°. Zellenzahl $2{,}0 \cdot 10^9$. Trockensubst. d. Hefe 27,0%.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	1,9	2,1	2,1	2,3	2,3
ccm CO_2 Rohrzucker	17,7	29,0	43.0	55,0	67,0

Versuch 4: Temp. 30°. Zellenzahl $2{,}2 \cdot 10^9$. Trockensubst. der Hefe 28,3%.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	1,2	1,4	1,6	1,7	1,7
ccm CO_2 Rohrzucker	15,6	27,0	37,7	47,5	62,0

Die Ergebnisse der obigen Versuche stimmen so nahe überein, daß wir aus denselben Mittelwerte berechnen können. Wir erhalten dann für die Temperatur 30° und eine mittlere Zellenzahl von $2{,}5 \cdot 10^9$ zwischen der ersten und fünften Gärstunde folgende Werte für das entwickelte CO_2-Gas:

Zucker	ccm CO_2	
	in 4 Stunden	in 1 Stunde
Galaktose	0,6	0,15
Rohrzucker	46,7	11,7

Die folgenden Versuche können wir deshalb der Raumersparnis halber unmittelbar in ähnlicher Weise zusammenfassen (mittlere Zellenzahl $2{,}3 \cdot 10^9$).

	Vers. 5	Vers. 6	Vers. 7	Vers. 8	Mittel
Galaktose	0,15	0,22	0.45	0,30	0,28
Rohrzucker	10,8	8,0	12,6	10,0	10,4

	Hauptmittel ccm/Stunde	Verhältnis
Galaktose	0,22	1
Rohrzucker	11,0	50

Dieses Verhältnis 50 : 1 gibt also die relative Menge CO_2 an, welche von unserer Hefe unter den bezeichneten Umständen von der zweiten bis einschließlich der fünften Gärungsstunde in den Lösungen der beiden Zuckerarten entwickelt wurden. Nach längerer Gärungszeit ändert sich dieser Quotient je nach den Umständen, wie auch aus den Kurven der Abb. 2, Abschn. II, S. 286 ersichtlich ist.

II. Einfluß von Aktivatoren auf die Anpassung an Galaktose [I Laurin[1]].

Die früheren Versuche von Euler und Johansson hatten darauf hingedeutet, „daß die Anpassung wenigstens der Hauptsache nach, an die Neubildung von stickstoffhaltiger Substanz geknüpft ist. Es ist hiernach wahrscheinlich, und damit stehen auch alle anderen Versuchsergebnisse im Einklang, daß Änderungen des Enzymgehaltes wie die hier gefundenen unter Neubildung von Zellen, also im Verlauf mehrerer Generationen eintreten". Die Wachstumsbedingungen spielen also, wie stets bei Anpassungsvorgängen auch hier eine entscheidende Rolle.

Als ausgezeichnetes Nährsubstrat ist von Pasteur und nach ihm von zahlreichen Forschern bekanntlich Hefenwasser empfohlen worden, und die vorzügliche Wirkung desselben auf das Wachstum von Hefen und vielen anderen Mikroorganismen wird in der Literatur der besonders günstigen Mischung der zur Stickstoffnahrung geeigneten Eiweißabbauprodukte zugeschrieben.

Eine Untersuchung von Euler und Heintze[2]) hat gezeigt, daß die Gärungsgeschwindigkeit einer bestimmten Anzahl von Zellen durch Hefewasser noch bedeutend stärker gesteigert wird als durch Asparagin, und zwar macht sich diese Steigerung auch bei solchen Aciditäten bemerkbar, welche an sich einen Zuwachs von Hefezellen ausschließen.

Nach dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse ist indessen zu erwarten, daß die Wirkung des Hefewassers auf Wachstum und Gärung nicht allein auf der Anwesenheit von Aminosäuren, Peptiden und Peptonen beruht, sondern daß dabei wenigstens noch ein Körper, nämlich das von Harden und Young[3]) entdeckte, sog. Co-Enzym der Gärung eine wesentliche Rolle spielt.

Daß dies hinsichtlich der Gärung der eigentlichen Zymohexosen (Glucose, Fructose, Mannose) der Fall ist, wurde schon von Euler und Berggren[4]) beobachtet, Versuche von Euler und Hammarsten[5]) und eine neuere Untersuchung[6]) haben

---

[1]) Siehe Euler und Laurin, Vet. Akad. Arkiv f. Kemi **7**, Nr. 28. 1920.

[2]) Euler und Heintze, Zeitschr. f. physiol. Chemie **108**, 165. 1919.

[3]) Harden und Young, Proc. Roy. Soc. B. **78**, 369. 1906.

[4]) Euler und Berggren, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 203. 1912. — Über weitere Aktivatoren vgl. daselbst S. 214.

[5]) Euler und Hammarsten, diese Zeitschr. **76**, 311. 1916.

[6]) Euler, Zeitschr. f. techn. Biol. **7**, 200. 1919.

kürzlich sichergestellt, daß diese Gärungsbeschleunigung auch dann eintritt, wenn keine Vermehrung der Zellenzahl stattfindet, bzw. daß die Gärungsbeschleunigung weit über die prozentische Vermehrung der Zellenzahl hinausgeht.

Alle diese Umstände machen es wahrscheinlich, daß das Hardensche Co-Enzym der Gärung dadurch, daß es Wachstum und Vermehrung der Hefe befördert, auch auf Anpassungserscheinungen einen wesentlichen Einfluß ausübt.

Wie aus unseren Versuchen hervorgeht, bestätigt sich dies tatsächlich insofern, als Zusatz von Co-Enzym enthaltenden Lösungen zu Zymohexosen und besonders zu Galaktose die Gärungsgeschwindigkeit erheblich beschleunigt. Allerdings ist damit noch nicht bewiesen, daß dieser Effekt vom Hardenschen Co-Enzym selbst herrührt. Dieser Auffassung scheinen in einer neueren Mitteilung Abderhalden und Schaumann[1]) zuzuneigen, und sie kann einstweilen nicht in Abrede gestellt werden. Indessen zeigen ja das Co-Enzym und der hypothetische, anpassungsbeschleunigende Stoff recht übereinstimmende Löslichkeitsverhältnisse, und dies bestimmt uns, einstweilen das Co-Enzym der Gärung auch als wirksames Agens im vorliegenden Fall anzunehmen.

Hefenwasser. Das Hefenwasser wurde dargestellt, indem 150 g Trockenhefe in 2 Liter siedenden Wassers eingerührt und darin etwa 15 Minuten gekocht wurden. Nach weiterer zweistündiger Digerierung bei etwa 90° wurde filtriert, worauf das Totalvolum etwa 1 Liter betrug.

Das Hefenwasser, welches 3% Trockensubstanz enthielt, wurde sterilisiert und zu Versuchen steril aufbewahrt.

Eine zweite Lösung wurde dargestellt durch Extraktion von 100 g Hefe mit 96proz. Alkohol unter Rückfluß, worauf die Lösung auf etwa 40% des ursprünglichen Volums eingeengt wurde. Schließliches Volum 465 ccm. Trockengewicht 0,44 g per 100 ccm.

Versuchsreihe 1.

Zusammensetzung der Versuchslösung: 20 ccm ca. 10proz. Na-Phosphatlösung (p_H = 5,1 durch Zusatz von HCl),
5 g Galaktose (Kahlbaum),
1 g Hefe (24,3 g Trockengewicht).

[1]) Abderhalden und Schaumann, Fermentf. 2, 120. 1918.

Hierzu: A 80 ccm Wasser — B 20 ccm Hefenwasser 60 ccm Wasser — C 10 ccm Alkoholextrakt 70 ccm Wasser

Temperatur 30°—28°.

Stunden	A ohne Extrakt		B mit Hefenwasser		C mit Alkoholextrakt	
	ccm CO_2	Zellenzahl	ccm CO_2	Zellenzahl	ccm CO_2	Zellenzahl
0	0	$7{,}5 \cdot 10^9$	0	$7{,}5 \cdot 10^9$	0	$7{,}5 \cdot 10^9$
1	4	—	59	—	31	—
5	12	—	74	—	62	—
18	14	$7{,}6 \cdot 10^9$	83	$8{,}4 \cdot 10^9$	66	$7{,}6 \cdot 10^9$
23	16	—	97	—	70	—
42	17	$7{,}8 \cdot 10^9$	164	$8{,}8 \cdot 10^9$	—	—
67	23	—	468	—	—	—
71	—	$8{,}2 \cdot 10^9$	—	$8{,}9 \cdot 10^9$	—	—

Die verhältnismäßig starke Kohlensäureentwicklung, welche in den ersten Stunden in allen Kolben eintrat, ist vermutlich auf kleine, im Galaktosepräparat anwesende Glucosemengen zurückzuführen. Sobald diese verbraucht sind, beginnt in A die normale, sehr schwache Galaktosevergärung. In B erfolgt dagegen unmittelbar eine „Anpassung", welche mit der Zeit bedeutend stärker als die Zellenzahl zunimmt. In C tritt nach einer anfänglich schwachen Kohlensäureentwicklung bald eine Hemmung, vielleicht durch den Alkohol des Extrakts, ein.

Versuchsreihe 1b.

In diesem Zusammenhang mag ein älterer, von Herrn Dozenten Hille angestellter Versuch mitgeteilt werden, welcher sich allerdings nicht wie die übrigen hier angegebenen, auf Oberhefe, sondern auf unsere Unterhefe H bezieht.

Diese Unterhefe wurde in der S. 278 angegebenen Nährlösung „L" vorbehandelt. Nach 3 Tagen wurde die Nährlösung von der Hefe abdekantiert, gewaschen, wieder aufgeschlämmt und abzentrifugiert; schließlicher Trockensubstanzgehalt 32%. Von dieser Hefe werden 0,25 g in 20 ccm einer 8proz. Zuckerlösung (Glucose bzw. Galaktose) aufgeschlämmt. Gärungstemperatur 30°. Je 1 Parallelversuch wurde mit 0,5 g Na-Zymophosphat (Natriumsalz des Fructosediphosphorsäureesters) versetzt.

Minuten	20 ccm 8proz. Glucose		20 ccm 8proz. Galaktose	
	+ 0,5 g Na-Zymophosphat	Ohne Zusatz	+ 0,5 g Na-Zymophosphat	Ohne Zusatz
35	7	7,3	4,2	3,4
60	16	15,5	11,2	7,9
124	35,8	31,4	27,1	16,1
178	53	46	40,4	—
270	92	64	79,5	34

Während bei nicht vorbehandelter Hefe die Vergärung von Galaktose nur unbedeutend beeinflußt wird, vermag das Zymophosphat die Galaktosevergärung vorbehandelter Hefe offenbar kräftig zu beeinflussen.

Die Beobachtung, daß die Vergärung von Glucose und Fructose durch lebende Hefe von Zymophosphat beschleunigt wird[1]), ist durch Harden[2]) bestätigt worden.

Versuchsreihe 2.

4 Kolben wurden mit 150 ccm einer 2 proz. Galaktoselösung beschickt, sterilisiert und nach dem Abkühlen mit 15 g Hefe versetzt, welche in der Lösung gut verteilt wurde.

Nach 48 Stunden wird aus dem ersten der 4 Kolben die Zuckerlösung abgegossen, die Hefe wird in Wasser aufgeschlämmt, abzentrifugiert und wieder aufgeschlämmt. Von dieser Suspension werden je 10 ccm, enthaltend 0,342 g Trockensubstanz, zu folgenden Gärungsversuchen benutzt:

A	B	C
20 ccm 10 proz. Na-Phosphatlös.	20 ccm 10 proz. Na-Phosphatlös.	20 ccm 10 proz. NH_4-Phosphatlös. ($p_H = 5{,}4$)
80 ccm Wasser	60 ccm Wasser	80 ccm Wasser
	20 ccm Hefenwasser	
10 ccm Hefensusp.	10 ccm Hefensusp.	10 ccm Hefensusp.
110 ccm Mischung	110 ccm Mischung	110 ccm Mischung

Zu allen drei Mischungen je 5 g Galaktose.

Die Gärung fand also jetzt statt teils in Abwesenheit von Stickstoffnahrung, teils mit dem Co-Enzymhaltigen Hefenwasser teils mit Ammoniumphosphat. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle enthalten.

Temperatur: $20 \pm 1°$.

Stunden	A ohne N-Nahrung		B mit Hefenwasser		C mit NH_4-Phosphat	
	ccm CO_2	Zellenzahl	ccm CO_2	Zellenzahl	ccm CO_2	Zellenzahl
0	0	$9{,}6 \cdot 10^9$	0	$9{,}6 \cdot 10^9$	0	$9{,}6 \cdot 10^9$
15	5	—	35	—	6	—
18	8	—	52	—	9	—
37	12	$9{,}4 \cdot 10^9$	Kolben gesprungen		58	$9{,}9 \cdot 10^9$
40	18,5	—			97	—
43	22,3	—			121	—
47	26	—			160	—
61	32	$9{,}1 \cdot 10^9$			273	$10{,}3 \cdot 10^9$
64	40	—			336	—
67	45	—			360	—
70	48	$9{,}2 \cdot 10^9$			360	—

[1]) Euler und Bäckström, Zeitschr. f. physiol. Chemie **77**, 394. 1912.

[2]) Harden, Alcoholic fermentation, 2. Aufl. S. 130. Monographs on Biochemistry, London 1914.

Versuchsreihe 3.

Die Hefe wurde während 5 Tagen an 2 proz. Galaktose in der gleichen Weise angepaßt wie in der vorigen Versuchsreihe. Trockengewicht der Hefensuspension 0,230 g per 10 ccm.

Temperatur: $29 \pm 0{,}5°$.

Stunden	A ohne N-Nahrung		B mit Hefenwasser		C mit NH_4-Phosphat	
	ccm CO_2	Zellenzahl	ccm CO_2	Zellenzahl	ccm CO_2	Zellenzahl
0	0	$6{,}8 \cdot 10^9$	0	$6{,}8 \cdot 10^9$	0	$6{,}8 \cdot 10^9$
4	6	—	52	—	5	—
19	45	—	157	—	35	—
24	70	—	264	—	62	—
25,5	86	—	312	—	83	—
42	146	—	522	—	247	—
45	154	—	559	—	281	—
48	171	$7{,}5 \cdot 10^9$	581	$8{,}1 \cdot 10^9$	329	$7{,}2 \cdot 10^9$
66	227	—	581	—	493	—
72	264	$7{,}4 \cdot 10^9$	581	$8{,}1 \cdot 10^9$	523	$7{,}2 \cdot 10^9$

Ein Vergleich dieser Tabelle mit der vorhergehenden zeigt, daß während der drei Tage, in welchen die Hefe sich in der Galaktoselösung befunden hat, eine bedeutende Vergrößerung der Fähigkeit zur Galaktosevergärung eingetreten ist. Am meisten macht sich dieselbe in den Lösungen A (ohne N-Nahrung) bemerkbar.

Versuchsreihe 4.

Die Hefe wurde in Nährlösungen eingetragen, welche außer 2% Galaktose noch 1% Wittepepton enthielten.

Nach 4 Tagen wurde die Hefe abzentrifugiert, in Wasser aufgeschlämmt, aufs neue zentrifugiert und wieder in Wasser aufgeschlämmt. Mit je 10 ccm Hefensuspension wurden die gleichen Versuche angestellt, wie in Versuchsreihe 2 und 3.

Temperatur: $29 \pm 1{,}5°$.

Stunden	A ohne N-Nahrung		B mit Hefewasser		C mit NH_4-Phosphat	
	ccm CO_2	Zellenzahl	ccm CO_2	Zellenzahl	ccm CO_2	Zellenzahl
0	0	$2{,}9 \cdot 10^9$	0	$2{,}9 \cdot 10^9$	0	$2{,}9 \cdot 10^9$
3	40	—	58	—	39	—
6	100	—	183	$4{,}0 \cdot 10^9$	89	—
20	297	—	—	—	249	—
24	357	$5{,}5 \cdot 10^9$	—	—	330	$4{,}1 \cdot 10^9$
27	434	—	—	—	430	—
30	481	—	—	—	516	—
45	557	—	—	—	593	—
48	568	$5{,}5 \cdot 10^9$	—	—	603	$3{,}8 \cdot 10^9$
51	587	—	—	—	622	—
72	587	$5{,}0 \cdot 10^9$	—	—	651	$3{,}9 \cdot 10^9$

Auffallend ist, daß der Zuwachs der Zellenzahl bei A größer ist als bei C, eine Erscheinung, welche wiederholt gefunden wurde und nicht auf Versuchsfehlern beruht; dieselbe wird näher verfolgt.

Dieser Teil der Untersuchung mußte hier aus äußeren Gründen abgebrochen werden.

Wir fassen der Übersichtlichkeit wegen die gewonnenen Zahlen in der folgenden Abbildung zusammen. Die Ziffern 1 bis 4 der Kurven beziehen sich auf die betr. Versuchsreihen.

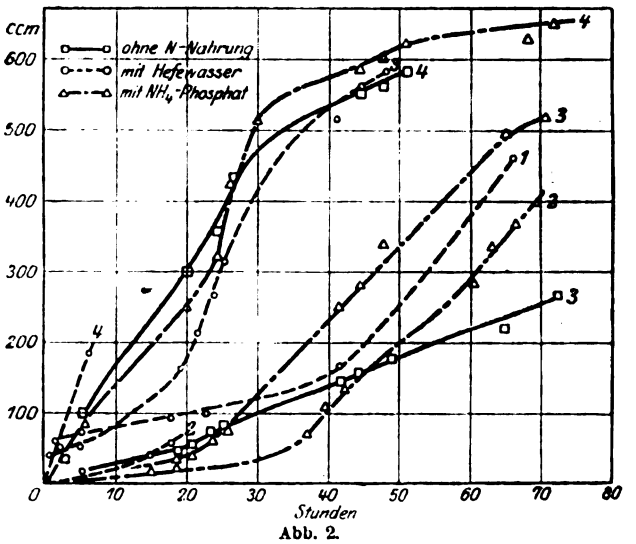


Abb. 2.

Versuchsreihe 5 (A. Pettersson).

Im Anschluß an die Versuchsreihe 1b wurde auch die Einwirkung derjenigen Stoffe auf die Galaktosevergärung untersucht, welche nach dem Befund von Euler und Cassel[1]) die Vergärung der übrigen Zymohexosen beschleunigen, also besonders die Alkalisalze der Oxy- und Ketonsäuren. Wir fassen unsere Versuche mit Natriumlaktat und Natriumcitrat in folgender Tabelle zusammen; wir geben daneben auch das mit einem Fruchtsaft gewonnene Ergebnis an, da der Vergleich uns zu weiteren Arbeiten mit Vitaminen verschiedener Herkunft geführt hat.

Zucker 1 g	ccm CO_2, 28°, p_H=4,5 durch 0,05 NaH_2PO_4				
	Ohne Zusatz	Na-Lactat 3 cg	Na-Citrat 3 cg	Präp. Citronensaft 3 ccm	Extr. Weizenkeiml. 3 ccm
Rohrzucker	113	116	117	137,5	142
Galaktose	7,6	7,8	7,8	78	87

[1]) Euler u. Cassel, Zeitschr. f. physiol. Chemie 86, 122. 1913 und Euler, Zeitschr. f. techn. Biol. 7, 155. 1919.

In beiden Versuchsreihen 25 ccm Lösung, 0,25 g Hefe. Serie 1 gor 7 Stunden, Serie 2 gor 24 Stunden.

Stärkere Effekte werden mit Citronensaft und Weizenkeimlingen an ausgewaschenem Zymin erhalten, worauf wir bald zurückkommen.

Wie bei früheren Versuchen wurde auf den Nachweis, daß der Zellenzuwachs 5% nicht übersteigt, besonderes Gewicht gelegt.

III. Anpassung in 2proz. Galaktoselösung „L 2" (A. Pettersson).

Angewandt zur Anpassung Nährlösung L 2, enthaltend

$$\text{per Liter} \begin{cases} 0{,}25\ \text{g } MgSO_4 \\ 5{,}0\ \text{g } KH_2PO_4 \\ 4{,}0\ \text{g } (NH_4)H_2PO_4 \end{cases}$$

In 100 ccm dieser Lösung L 2 wurden 2 g Galaktose gelöst und 5 g Hefe aufgeschlämmt. Anpassungstemperatur 17° bis 14°; die Flüssigkeit wurde zur Aufschlämmung der Hefe zuweilen umgeschüttelt. Nach der Anpassungszeit wurde die Lösung von der Hefe abdekantiert, die Hefe auf Ton schnell bis auf den Trockensubstanzgehalt von etwa 25% gebracht und dann sofort zu Gärversuchen verwendet.

Gärlösung:

20 ccm Wasser
5 ccm 5proz. NaH_2PO_4-Lösung ($p_H = 5$ durch Zusatz)
1 g Zucker (Galaktose bzw. Rohrzucker)
0,25 g angepaßte (vorbehandelte) Hefe

Versuchsreihe 5.

Nach 5tägiger Vorbehandlung wird die Lösung aufs neue mit 2 g Galaktose versetzt. Nach weiteren 24 Stunden Vorbehandlung wird die Hefe zum Gärversuch verwendet.

Gärtemperatur 30—32° Zellenzahl $1{,}8 \cdot 10^9$.

Stunden	1	2	3	4
Galaktose	4,1	5,9	8,2	10,1
Rohrzucker	12,7	25,4	38,2	48,5

Versuchsreihe 6.

Bedingungen wie in Versuchsreihe 5.

a) Anpassungszeit 162 Stunden. Gärtemperatur 30°. Zellenzahl $1{,}6 \cdot 10^9$. Trockensubstanz der Hefe 26,9%.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	3,9	6,4	8,6	10,6	13,1
Rohrzucker	12,1	25,0	37,2	46,7	59,0

b) Anpassungszeit 185 Stunden.

Die gleiche Hefe wurde am nächsten Tag wieder zu Gärversuchen verwendet. Bedingungen wie oben.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	3,2	5,1	6,4	8,3	9,66
Rohrzucker	11,3	24,7	33,7	48,2	59,7

Versuchsreihe 7.

Parallel mit der Vorbehandlung in Galaktoselösung wurde eine gleiche Menge Hefe unter ganz analogen Umständen in 2proz. Rohrzuckerlösung I. 2 vorbehandelt. Anpassungstemperatur 19—16°.

a) Anpassungszeit 212 Stunden. Ein Teil dieser Hefe wird unmittelbar untersucht.

Gärungstemperatur 30°. Mittlere Zellenzahl $2{,}6 \cdot 10^9$.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	3,7	5,5	7,2	8,7	10,5
Rohrzucker	11,6	21,6	32,8	42,0	51,8

b) Gesamte Anpassungszeit 236 Stunden.

Der zweite Teil der 212 Stunden vorbehandelten Hefe wurde in der gleichen Weise einer erneuten Vorbehandlung unterworfen; nach 236 Stunden wurden wie oben Gärungsversuche angestellt. Trockengewicht der abgepreßten Hefe 24,4 bzw. 27,2%.

Gärungstemperatur 30°. Mittlere Zellenzahl $2{,}4 \cdot 10^9$.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	3,0	5,2	6,7	8,1	10,0
Rohrzucker	11,2	23,2	33,0	41,1	51,8

Versuchsreihe 8.

a) Anpassungszeit 235 Stunden. Wiederholung der Versuchsreihe 7. Anpassungstemperatur 16—19°.

Trockensubstanz der auf $\begin{matrix}\text{Galaktose}\\ \text{Rohrzucker}\end{matrix}$ vorbehandelten Hefe: $\begin{matrix}27{,}9\%\\ 28{,}4\%\end{matrix}$

Gärungstemperatur 30°. Zellenzahl $2{,}5 \cdot 10^9$ bzw. $2{,}9 \cdot 10^9$; die CO_2-Volumina der nachfolgenden Tabelle sind auf die Zellenzahl $2{,}7 \cdot 10^9$ reduziert.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	3,0	5,2	6,6	8,0	9,8
Rohrzucker	11,7	23,1	34,0	45,5	61,5

b) Anpassungszeit 258 Stunden.

Ein Teil der Hefe verblieb weitere 23 Stunden bei 19—16° in der Vorbehandlungslösung. Trockensubstanzgehalt übereinstimmend 27,5%. Gärungstemperatur 30°. Die CO_2-Volumina der Tabelle sind auf die Zellenzahl $2{,}2 \cdot 10^9$ reduziert.

Stunden	1	2	4	5	6
Galaktose	2,2	4,3	6,7	8,0	9,0
Rohrzucker	10,3	22,1	41,1	52,5	65,1

Bei sämtlichen Versuchen dieses Abschnittes zeigt sich in den fünf untersuchten Gärungsstunden nach der Vorbehandlung mit Galaktoselösung eine sehr deutliche Anpassung an diese Hexose. Zunächst bemerkt man, daß die Gärkraft der Hefe gegenüber Galaktose nach den einzelnen Vorbehandlungen annähernd gleich groß ist, daß also die Anpassung ziemlich gleich weitgehend stattgefunden hat; es war also schon bei der ersten Probenahme (Versuche a) das Maximum nahezu erreicht; in der folgenden Zeit tritt keine weitere diesbezügliche Änderung an der ruhenden Hefe mehr ein.

Die Gleichartigkeit der Anpassung bei den einzelnen Versuchen gestattet, dieselben zu einem Mittel zu vereinigen. Dasselbe, auf die Gärtemperatur 30° und eine Zellenzahl von $2{,}2 \cdot 10^9$ bezogen, stellt sich folgendermaßen dar:

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	3,3	5,4	7,3	8,8	10,3
Rohrzucker	11,6	23,6	35,5	45,8	58,1
Differenzen	8,3	18,2	28,2	37,0	47,8
	8,3	9,9	10,0	8,8	10,8

Die Differenz pro Stunde ist in den fünf ersten Gärstunden also recht konstant; sie beträgt pro Stunde im Mittel 9,6 ccm.

Das Verhältnis zwischen vergorener Galaktose und vergorenem Rohrzucker, das wir S. 280 bei der unvorbehandelten Hefe 1 : 50 fanden, ist nun 1 : 6,5. Die Gärkraft der Hefe gegen Galaktose ist durch die Vorbehandlung rund im Verhältnis 1: 8 gestiegen.

Diese Steigerung ist an sich recht beträchtlich. Das Verhältnis der Vergärungsgeschwindigkeit beider Hexosen 1 : 6,5 blieb aber bei obigen Versuchen ein größeres, als das früher (vgl. S. 278) von Euler und Johansson erreichte 1 : 1,5.

Wir haben deswegen untersucht, ob dieser Unterschied in der Heferasse begründet ist, und haben unter den gleichen Bedingungen wie oben erneut Unterhefe H untersucht, welche sich allerdings seit 1912 in mancher Hinsicht geändert hat.

Versuche mit Unterhefe H.

Versuchsreihe 9.

Unvorbehandelte Hefe. Gärtemperatur 30°. Zellenzahl $1{,}1 \cdot 10^9$.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	2,5	3,4	3,7	4,0	4,3
Rohrzucker	13,0	24,1	33,0	44,1	56,2

Hieraus ergibt sich:

Zucker	ccm CO_2	
	in 4 Stunden	in 1 Stunde
Galaktose . .	0,9	0,3
Rohrzucker. .	32,1	10,7

Die Vorbehandlung dieser Unterhefe entsprach genau der S. 287 beschriebenen. Anpassungstemperatur 17—20°. Anpassungszeit 168 Stunden. Gärtemperatur 30°. Zellenzahl $1{,}3 \cdot 10^9$.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	3,7	7,5	12,0	17,7	24,3
Rohrzucker	14,6	27,0	38,8	52,1	66,5

Der andere Teil der vorbehandelten Hefe wurde weitere 42 Stunden vorbehandelt, im ganzen also 210 Stunden. Hiernach ergaben die Gärungsversuche:

Gärungstemperatur 30°. Zellenzahl $1{,}25 \cdot 10^9$.

Stunden	1	2	3	4	5
Galaktose	1,9	4,0	6,5	9,8	13,6
Rohrzucker	7,1	17,5	28,0	38,1	47,5

Wenn auch hier nur eine einzige Versuchsreihe (mit allerdings je 3 Parallelversuchen) vorliegt, so ist doch deutlich, daß die Unterhefe H sich unter den gleichen Umständen an Galaktose vollständiger anpaßt, als die Oberhefe SB II. Denn es ergibt sich aus obigen Versuchen nach der 168stündigen Vorbehandlung folgende Anzahl ccm CO_2 per Stunde:

Galaktose	5,6
Rohrzucker	13,2
Quotient	2,4

Der früher von Johansson gefundene Quotient wurde allerdings nicht erreicht. Ein Unterschied in den Anpassungsbedingungen war insofern vorhanden, als Johansson auf 100 ccm Nährlösung nur 1 g Hefe, wir aber hier 5 g Hefe angewandt haben.

Zusammenfassung.

1. Als normales Verhältnis der Vergärungsgeschwindigkeiten von Rohrzucker und Galaktose durch unsere Oberhefe SB II wurde (unter gegebenen Bedingungen, vgl. S. 279) zwischen der zweiten und fünften Gärstunde der Quotient 1: 50 ermittelt.

2. Die Vergärung von Galaktose wird durch wässrigen Extrakt von Trockenhefe beschleunigt, ähnlich wie dies für die Vergärung

von Glucose und Fructose von Euler und Berggren nachgewiesen wurde, und wie dies Abderhalden und Schaumann durch einen alkoholischen Extrakt von Hefe bzw. ein daraus hergestelltes Präparat erreicht haben.

Als wirksamen Bestandteil des Hefenwassers hatten Euler und Berggren, wie schon oben erwähnt, das Hardensche Co-Enzym angenommen, welches ja von Harden und Young u. a. dadurch charakterisiert worden war, daß es ausgewaschene Trockenhefe in Gegenwart von Phosphat zur Gärtätigkeit befähigt. Es liegt nahe anzunehmen, daß auch die Vergärung von Galaktose durch dieses Co-Enzym beschleunigt wird. Ein Beweis hierfür liegt allerdings, wie schon betont, nicht vor, so daß man, wenn man will, für die Aktivierung der Galaktosevergärung, sowie auch für die Aktivierung der Glucosevergärung durch Hefenwasser mit Abderhalden und Schaumann einen neuen Aktivator annehmen kann.

Für die endgültige Aufklärung dieser Erscheinung ist jedenfalls der Umstand bemerkenswert, daß die Gärungsbeschleunigung durch Hefenextrakt oft ganz ohne Vermehrung der Zellenzahl vor sich geht, in anderen Fällen jedenfalls weit größere Beträge annimmt, als der Zellenvermehrung entspricht. Hält man andererseits an dem von Euler und Johansson 1912 gezogenen Schluß fest, daß auch die Anpassung an Galaktose mit der Neubildung der Zellen in engstem Zusammenhang steht, so kommt man auf eine Erscheinung zurück, welche der eine von uns[1]) 1914 kurz beschrieben hat: Durch Extraktion vorsichtig getrockneter Hefe läßt sich ein Zustand der Zellen erreichen, in welchem diese zwar noch eine weit über die Wirksamkeit der „Zymasegärung" gehende Gärkraft besitzen, aber kein Wachstum mehr zeigen. Es deutet dies darauf hin, daß der Hefe durch geeignete Behandlung ein Wachstumsaktivator entzogen werden kann, während der Gärungsaktivator noch in ausreichendem Grad in den Zellen verbleibt.

3. Durch Vorbehandlung unserer Oberhefe mit Galaktoselösungen wurde eine Anpassung erzielt, welche einem Verhältnis der Gärungsgeschwindigkeiten von Rohrzucker zu Galaktose 1 : 6,5 entspricht. Mit Unterhefe wurde unter entsprechenden Umständen das Verhältnis 1 : 2,4 erreicht.

[1]) Euler, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 5, 1. 1914.

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens am isolierten Froschherzen.

Von

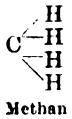
Werner Kießling.

(Aus dem Pharmakolog. Institut der Universität Berlin.)

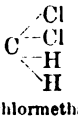
(Eingegangen am 8. Dezember 1920.)

Von den im Titel genannten Verbindungen interessieren uns hier folgende, deren Konstitution aus nachstehenden Formeln ersichtlich ist:

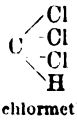
I. Derivate des Methans:



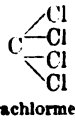
Methan



Dichlormethan (Methylenchlorid) Kp. 40°

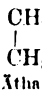


Trichlormethan (Chloroform) Kp. 60°

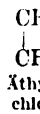


Tetrachlormethan Kp. 78°

II. Derivate des Äthans:

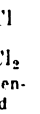


Äthan

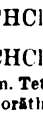


Äthylenchlorid Kp. 84°

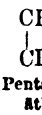
Äthylidenchlorid Kp. 60°



Sym. Tetrachloräthan Kp. 147°

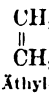


Pentachloräthan Kp. 159°

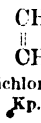


Hexachloräthan Sp. 185°

III. Derivate des Äthylens:

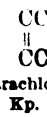


Äthylen



Dichloräthylen Kp. 55°

Trichloräthylen Kp. 88°



Tetrachloräthylen Kp. 121°

Diese Stoffe sind in unserem Institut schon mehrfach Gegenstand experimenteller Untersuchungen gewesen. Im Jahre 1914 beschäftigten sich Heffter und Joachimoglu mit der Stoff-

wechselwirkung des Tetrachloräthans, das als Lösungsmittel für Streichlacke in einer Flugzeugfabrik benutzt wurde und zu schweren Vergiftungen der mit dem Lacken arbeitenden Leute führte[1]). In Versuchen an Hunden konnten starke Organverfettungen mit dieser Verbindung hervorgerufen werden. Auch wurde gefunden, daß die hämolytische Wirkung des Tetrachloräthans sechs mal stärker als die des Chloroforms ist. Speziell mit der hämolytischen Wirkung beschäftigte sich dann W. Plötz[2]). Er fand, daß die meisten dieser Verbindungen hämolytisch wirken. Nur das Penta- und Hexachloräthan und die Derivate des Äthylens zeigten keinen solchen Effekt. Sein Ausbleiben erklärte Plötz aus der geringen Wasserlöslichkeit dieser Verbindungen. Wirksamer erweisen sich diese Substanzen, wenn man ihre narkotische Wirkung auf Süßwasserfische (Moorkarpfen) in Betracht zieht; denn Joachimoglu[3]) konnte zeigen, daß alle diese Verbindungen in wässerigen Lösungen auf Süßwasserfische (Moorkarpfen) narkotisch wirken.

Mir wurde nun die Aufgabe gestellt, diese Stoffe auch in bezug auf ihre Herzwirkung zu untersuchen. Es wurden die Konzentrationen bestimmt, die Ventrikelstillstand hervorrufen. Das Herz von Landfröschen (Rana temporaria) wurde nach Straub präpariert, und in die Glaskanüle nach Entfernung der Ringerlösung eine ebenso zusammengesetzte Lösung, die jedoch von der zu untersuchenden Verbindung eine bekannte Menge gelöst enthielt, gebracht. In folgender Tabelle habe ich die ermittelten Zahlen zusammengestellt, außerdem finden sich in Spalte 5 Zahlen, die ich als Wirkungszahlen bezeichne und die einen Vergleich der Wirksamkeit des Chloroforms mit der Wirksamkeit der anderen Verbindungen gestatten. Weiter habe ich die von Plötz für die hämolytische Wirksamkeit und von Joachimoglu für die narkotische Wirksamkeit gefundenen Zahlen angeführt. Nur beim Hexachloräthan und Tetrachloräthylen

[1]) V. Grimm, A. Heffter und G. Joachimoglu, Gewerbliche Vergiftungen in Flugzeugfabriken, Vierteljahrsschrift für gerichtliche Medizin und öffentliches Sanitätswesen 48, 3 Suppl. 161. 1914.

[2]) W. Plötz, Vergleichende Untersuchungen über die hämolytische Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens. Diese Zeitschr. **103**, 243. 1920.

[3]) Noch nicht veröffentlicht, mitgeteilt auf der Naturforscherversammlung in Nauheim 1920.

Tabelle.

Formel Name Siedepunkt	Löslichkeit in 1 l Ringerlösung		Konzentration, die Ventrikelstillstand hervorruft		Wirkungszahl a. Grund der Herzwirkung: Chloroform = 1	Hämolytische Zahl: Chloroform = 1	Narkotische Zahl: Chloroform = 1
	g	ccm	ccm in 1 l	g Mol in 1 l			
CH_2Cl_2 Dichlormethan 40, 41°	13,22	10,0	2,8	0,0435	0,5	0,42	0,3
$CHCl_3$ Chloroform 60, 62°	7,445	5,0	1,8	0,0224	1	1	1
CCl_4 Tetrachlormethan 76—77°	0,8	0,5	0,39	0,004	5	10,5	1,5
CH_2Cl | CH_2Cl Äthylendichlorid 83,5°	8,51	6,8	2,26	0,0283	0,8	0,52	1
CH_3 | $CHCl_2$ Äthylidenchlorid 59°	4,11	3,5	0,7	0,00858	2,6	0,95	2,7
$CHCl_2$ | $CHCl_2$ Tetrachloräthan 147°	2,0	1,25	0,313	0,002989	7,5	6	13,1
CH_2Cl_5 Pentachloräthan 159°	0,17	0,1	0,1	0,0008368	26	—	20
CCl_3 | CCl_3 Hexachloräthan (Smp.) 185°	0,01	—	—	—	—*)	—	59
$CHCl$ ‖ $CHCl$ Dichloräthylen 55°	1,25	1,0	0,86	0,011	2	—	0,37
$CHCl$ ‖ CCl_2 Trichloräthylen 88°	1,18	0,8	0,68	0,0076	2,9	—	13,1
CCl_2 ‖ CCl_2 Tetrachloräthylen 121°	0,08	0,05	—	—	—	—	6,2

*) — bedeutet, daß die stärkste im Wasser mögliche Konzentration keine Wirkung zeigt.

konnten die entsprechenden Konzentrationen nicht ausgerechnet werden, da bei diesen Verbindungen, auch bei der stärksten in Wasser möglichen Konzentration, eine Wirkung auf das Herz nicht ermittelt werden konnte.

Die Tabelle erlaubt uns also, die Wirkung dieser Verbindungen auf das Herz, auf die roten Blutkörperchen und auf das zentrale Nervensystem miteinander zu vergleichen. Wir sehen, daß diese drei Eigenschaften keineswegs parallel gehen. So ist z. B. die Wirkung des Tetrachlormethans auf das Herz nur fünfmal stärker als die des Chloroforms, während die hämolytische Wirkung zehnmal stärker und die narkotische Wirkung nur $1^1/_2$ mal stärker ist. Äthylendichlorid wirkt schwächer auf das Herz als Äthylidenchlorid, obwohl beide Verbindungen die gleiche Anzahl Chloratome aufweisen. In der Methan- und Äthanreihe nimmt mit der Zahl der Chloratome die Wirkung zu; nur in bezug auf die narkotische Wirkung konnte Joachimoglu eine Ausnahme von dieser Regel feststellen, denn das Tetrachloräthylen wirkt schwächer narkotisch als das Trichloräthylen.

In ähnlicher Weise, wie es Plötz gezeigt hat, konnte festgestellt werden, daß auch mit Bezug auf die Herzwirkung die Traubesche Theorie auf die hier in Betracht kommenden Verbindungen nicht anwendbar ist. Diese Körper beeinflussen bekanntlich in wässeriger Lösung die Oberflächenspannung des Wassers nicht. Trotzdem werden sie von Traube[1]) zu den capillaraktiven gerechnet, der dieses Verhalten damit erklärt, daß während der Messungen wegen des großen Dampfdruckes die capillaraktive Substanz in die Luft „diosmiert". Diese Ansicht ist leicht zu widerlegen, denn es zeigt sich, daß Lösungen von Chloroform, die ein Stalagmometer passiert haben, auf das Herz in der oben angedeuteten Versuchsanordnung stark wirksam sind.

Zusammenfassung.

1. In Versuchen am isolierten Froschherzen wurde die Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens untersucht. Sie rufen in wässerigen Lösungen mit Ausnahme des Hexachloräthans und Tetrachloräthylens Ventrikelstillstand hervor. Die gefundenen Zahlen sind in der Tabelle zusammengestellt.

[1]) Theorie der Narkose. Archiv f. d. ges. Physiol. **153**, 276. 1913; auch diese Zeitschr. **98**, 177. 1919.

2. Die Traubesche Theorie wird bei diesen Verbindungen mit Bezug auf die Herzwirkung durch die Tatsache widerlegt, daß eine wässerige Chloroformlösung auch nach Passieren des Stalagmometers wirksam bleibt.

Zum Schlusse meiner Arbeit ist es mir ein Bedürfnis, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Heffter für die Überweisung des Themas und die jederzeit zuvorkommende Unterstützung meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Untersuchungen über die Verteilung der Phosphate zwischen Blutkörperchen und Plasma innerhalb und außerhalb des Organismus.

Von

Poul Iversen.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 9. Dezember 1920.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Setzt man zu defibriniertem Blut verschiedene Salze, so werden diese sich bekanntlich zwischen Serum und Blutkörperchen der Natur der einzelnen Salze gemäß in höchst verschiedener Weise verteilen; Untersuchungen über dies Verteilungsverhältnis sind im großen Maße angestellt worden von Hamburger, Hedin, Overton, Koeber, Oker Blom und Ege u. a. m. Teils durch direkte Analyse, teils durch Untersuchung der Veränderungen des Volumens der Blutkörperchen und des Leitvermögens des Plasmas oder der Gefrierpunktserniedrigung haben diese Forscher dargetan, daß ein Teil der Ionen der verschiedenen Salze das Vermögen besitzt, durch das Blutkörperchenhäutchen einzudringen, indem gleichzeitig eine entsprechende Menge anderer Ionen hinaustritt. Einige Ionen passieren mit außerordentlich großer Leichtigkeit, andere mit Schwierigkeit und wiederum andere durchdringen das Blutkörperchenhäutchen gar nicht. Die Anionen lassen sich in verschiedene Gruppen teilen, von denen einige z. B. SO_4 und HPO_4 langsam und schwer, andere z. B. Cl und J schnell und leicht passieren. So findet Hedin[1]), daß HPO_4 in $(NH_4)_2HPO_4$ schwer passiert; er gibt an, daß die Phosphationen sich in schwachen Konzentrationen gleichmäßig zwischen Blutkörperchen und Plasma verteilen, daß sich aber bei stärkeren Konzentrationen stets prozentisch am meisten im Plasma finden wird, und zwar

[1]) Hedin, Arch. f. d. ges. Physiol. **70**, 525. 1898.

um so mehr, je höher die Konzentration des Salzes ist. R. Ege[1]) findet, daß das Cl-Ion das Blutkörperchenhäutchen etwa 15 mal schneller passiert als das HPO_4-Ion; über die absolute Permeabilitätsgeschwindigkeit dieses Ions äußert er sich aber nicht.

Bevor ich zu der Besprechung meiner eigenen Untersuchungen über die Verteilung der Phosphate zwischen Blutkörperchen und Plasma übergehe, muß ich über den Phosphorgehalt des Blutes einige Bemerkungen machen. Der Gesamtphosphor des Blutes besteht aus dem in den Albuminstoffen und den Lipoiden vorhandenen Phosphor sowie aus dem sog. „säurelöslichen Phosphor", worunter nach Greenwald[2]) der Phosphor zu verstehen ist, der sich in denjenigen Stoffen findet, die in Lösung treten, wenn Blut (Plasma) mit einer salzsauren Pikrinlösung gefällt und extrahiert wird[3]). Ein Teil des „säurelöslichen Phosphors besteht aus Phosphaten und der Rest aus einem Stoff oder Stoffen, die unter gewissen Bedingungen sehr leicht Phosphatgruppen abgeben, diese aber nicht in dissoziablen Verbindungen enthalten. Diese Stoffe sind unlöslich in Alkohol, Äther und Choloróform.

Gegenwärtig ist es kaum möglich, mit völliger Sicherheit im Blute die Phosphate von dem übrigen „säurelöslichen Phosphor" zu scheiden; aber nach den vorliegenden Untersuchungen scheinen gewisse Resultate doch als festgestellt betrachtet werden zu können. So finden sich in Kaninchenplasma etwa 3 mg „säurelöslichen Phosphors" pro 100 ccm, und davon bestehen etwa 85% aus Phosphat, während der Rest, etwa 15%, den sog. Restphosphor ausmacht (Feigl). In den Kaninchenblutkörperchen findet sich etwa 25 mal so viel „säurelöslicher Phosphor" wie im Plasma. Nach den vorliegenden Untersuchungen besteht jedoch kaum ein wesentlicher Unterschied zwischen der Phosphatmenge in den Blutkörperchen und im Plasma; bei weitem die größte Menge des „säurelöslichen Phosphors" in den Blutkörperchen besteht aus den früher erwähnten unbekannten Verbindungen.

Dies ist von großer Bedeutung für das folgende, indem man

---

[1]) R. Ege, Glucosens Fordeling mellem Plasma og røde Blodlegemer. Diss. København 1919.

[2]) Greenwald, Journ. of Biolog. Chem. **14**, 369. 1913.

[3]) Der säurelösliche Phosphor kann auch durch Behandlung von Blut und Plasma mit einer salzsauren Sublimatlösung extrahiert werden. Siehe Iversen, diese Zeitschr. **104**. 1920.

nur die Größe der Verschiebung von Phosphationen aus dem Plasma in die Blutkörperchen, welche stattfindet, wenn die Phoshate dem Blut zugeführt werden, in der Weise messen kann, daß man die Vermehrung des prozentischen Inhalts von „säurelöslichem Phosphor" sowohl im Plasma als in den Blutkörperchen bestimmt.

Bei einigen Untersuchungen über das Geschick der Phosphate im Organismus fand ich folgendes Verhältnis. Unmittelbar nach der Injektion einer Phosphatlösung in das Gefäßsystem war die Vermehrung des prozentischen Inhalts von „säurelöslichem Phosphor" bedeutend größer im Plasma als in den Blutkörperchen; untersuchte man aber darauf das Blut des Tieres mit kürzeren Zwischenräumen, so zeigte es sich, daß das Verhältnis sich nach einiger Zeit änderte: die Konzentration des „säurelöslichen Phosphors" nahm im Plasma ab, während sie in den Blutkörperchen zunahm, und die Vermehrung des prozentischen Inhalts von „säurelöslichem Phosphor" in den Blutkörperchen erreichte allmählich bedeutend höhere Werte als der entsprechende Wert im Plasma. Dies eigentümliche Verhältnis, das sich nicht von einer einfachen physikalisch-chemischen Betrachtung aus erklären zu lassen scheint, veranlaßte mich, untenstehende Untersuchungen anzustellen, bei denen ich das Eindringen von Phosphaten aus dem Plasma in die Blutkörperchen studiert und diesen Vorgang sowohl innerhalb als außerhalb des lebenden Organismus verglichen habe.

Die erste Versuchsreihe, die Untersuchungen außerhalb des Organismus, wurden teils bei Zimmertemperatur und teils bei 38° ausgeführt; es wurde bei allen Versuchen frisches, defibriniertes Kaninchenblut benutzt, wovon eine Probe zentrifugiert und der prozentische Gehalt von „säurelöslichem Phosphor" in Blut und Serum bestimmt wurde, wie auch der prozentische Gehalt des Blutes an Blutkörperchen durch eine Hämatokritbestimmung festgestellt wurde. Zu einer gewissen Menge Blut wird darauf eine bestimmte Menge einer 3,6 proz. (isotonischen) Lösung von Na_2HPO_4, $12H_2O$ gesetzt, wonach die Blutmischung in einer Flasche angebracht wurde, die in horizontaler Stellung langsam um ihre Längsachse rotierte. Zu verschiedenen Zeitpunkten nach dem Phosphatzusatz wurden Blutproben entnommen, in denen gleichfalls die prozentische Menge des „säurelöslichen Phosphors" in Blut und Serum bestimmt wie auch der Volumenprozentsatz

der Blutkörperchen im Blut durch eine Hämatokritbestimmung festgestellt wurde. Aus der prozentischen Menge des „säurelöslichen Phosphors" in Blut und Serum sowie aus dem Volumenprozentsatz der Blutkörperchen kann man den Gehalt der Blutkörperchen an „säurelöslichem Phosphor" berechnen. Die Phosphorbestimmungen wurden alle nach dem von mir angegebenen Verfahren[1]) ausgeführt, und, so weit es möglich war, benutzte ich bei den Analysen so viel Analysenmaterial, daß bei der Titration 2—3 ccm n/25 NaOH benutzt wurden, was etwa 0,1 mg P entspricht.

Bei den bei 38° ausgeführten Versuchen wurde das Blut, damit ein etwaiges Bakterienwachstum nicht störend eingreife, unter aseptischen Maßregeln entnommen.

Die in dieser Weise ausgeführten Versuche sind die folgenden:

Versuch 1: Der Versuch wurde bei Zimmertemperatur (16°) angestellt. Zu 30 ccm defibriniertem Kaninchenblut (Normalblut, siehe die Analyse in Tabelle I) wurden 5 ccm 3,6 proz. Na_2HPO_4, 12 H_2O gesetzt, welche Lösung 15,0 mg Phosphor (Glührestbestimmung) enthielt.

Die Blutmischung (30 ccm + 5 ccm) enthielt danach infolge meiner Berechnung 62,6 mg „säurelöslichen Phosphor" pro 100 ccm (die direkte Analyse der Blutmischung ergab gut übereinstimmende Werte). Wenn die zugesetzte Phosphatmenge nicht in die Blutkörperchen eindringt, sondern sich ausschließlich auf das Serum verteilt, sollten sich nach dem Zusatz 60,0 mg Phosphor pro 100 ccm Serum finden. Die Versuchsresultate sind in Tabelle I angeführt.

Tabelle I.

Rotationszeit	Serum Hämatokrit %	Säurelöslicher Phosphor in mg p. 100 ccm Blut	Serum	Blutkörperchen	Zunahme p. 100 ccm Serum	Blutkörperchen	Bemerkung
	70	23,1	3,0	70			Normalblut
0 Min.	74,1	62,6	57,0	79	54,6	9	
40 „	74,1		55,9	82	53,5	12	Nach
2 Std.	74,0		56,5	80	54,1	10	Zusatz von
4 „	74,1		55,2	84	52,8	14	Na_2HPO_4
8 „	74,2		51,8	94	49,4	24	

Versuch 2: Der Versuch wurde gleichzeitig und an demselben Blut angestellt wie Versuch 1. Zu 50 ccm Blut (Analyse siehe Tabelle II) wurden 10 ccm 3,6 proz. Na_2HPO_4, 12 H_2O gesetzt, welche Lösung 30,0 mg P enthielt. Nach dem Zusatz werden sich in der Blutmischung 69,2 mg von

[1]) Poul Iversen, diese Zeitschr. **104**, 22. 1920.

„säurelöslichem Phosphor" pro 100 ccm finden. Falls die zugesetzte Phosphatmenge sich ausschließlich auf das Serum verteilt, so sollten sich nach dem Zusatz 69,2 mg P pro 100 ccm Serum finden. — Die Versuchsresultate sind in Tabelle II angeführt.

Tabelle II.

Rotationszeit	Serum Hämatokrit %	Säurelöslicher Phosphor in mg p. 100 ccm: Blut	Serum	Blutkörperchen	Zunahme p. 100 ccm: Serum	Blutkörperchen	Bemerkungen
—	70	23,1	3,0	70	—	—	Normalblut
0 Min.	75,2	69,2	68,0	73	65,7	3	
40 „	75,1	—	64,5	83	62,2	13	Nach Zusatz von Na_2HPO_4
2 Std.	75,1	—	61,8	88	59,5	18	
4 „	75,0	—	61,8	88	59,5	18	
8 „	75,0	—	61,8	88	59,5	18	

Versuch 3: Der Versuch wurde bei 38° angestellt, indem die Rotationsmaschine in einem Thermostaten bei dieser Temperatur angebracht war. Wie in Versuch 2 wurden 10 ccm 3,6 proz. Na_2HPO_4, 12 H_2O zu 50 ccm defibriniertem Kaninchenblut (Normalblut, siehe die Analyse in der Tabelle III) gesetzt. Nach dem Zusatz werden sich in der Blutmischung 73,9 mg von „säurelöslichem Phosphor" finden, und wenn die zugesetzte Menge sich ausschließlich auf das Serum verteilt, so sollten sich darin 73,7 mg pro 100 ccm finden. — Die Versuchsresultate sind in Tabelle III angeführt.

Tabelle III.

Rotationszeit	Serum Hämatokrit %	Säurelöslicher Phosphor in mg p. 100 ccm: Blut	Serum	Blutkörperchen	Zunahme p. 100 ccm: Serum	Blutkörperchen	Bemerkungen
—	66,7	28,1	5,7	73	—	—	Normalblut
40 Min.	71,0	73,9	68,2	88	64,0	15	Nach Zusatz von Na_2HPO_4
2 Std.	71,1	—	62,6	101	58,4	28	
4 „	70,8	—	61,0	105	56,8	32	
8 „	70,2	—	60,8	105	56,6	32	

Versuch 4: Der Versuch wurde gleichzeitig und an demselben Blut wie Versuch 3 angestellt. Zu 30 ccm Blut (Analyse siehe Tabelle IV) wurden 5 ccm 3,6 proz. Na_2HPO_4, 12 H_2O gesetzt. Pro 100 ccm Blutmischung sollen sich danach 66,6 mg von „säurelöslichem Phosphor" finden, und wenn die zugesetzte Phosphatmenge sich auf das Serum allein verteilt, sollten sich darin 64,4 mg pro 100 ccm finden. Die Versuchsresultate sind in Tabelle IV angeführt und an der Abb. 1 graphisch dargestellt.

Tabelle IV.

Rotationszeit	Serum Hämatokrit %	Säurelöslicher Phosphor in mg p. 100 ccm: Blut	Serum	Blutkörperchen	Zunahme p. 100 ccm: Serum	Blutkörperchen	Bemerkung
	66,7	28,0	5,6	73			Normalblut
40 Min.	71,5	66,7	59,2	86	54,8	13	Nach Zusatz von Na_2HPO_4
2 Std.	71,5		52,6	102	48,2	29	
4 „	70,9		51,2	104	46,8	31	
8 „	70,9		51,2	104	46,8	31	

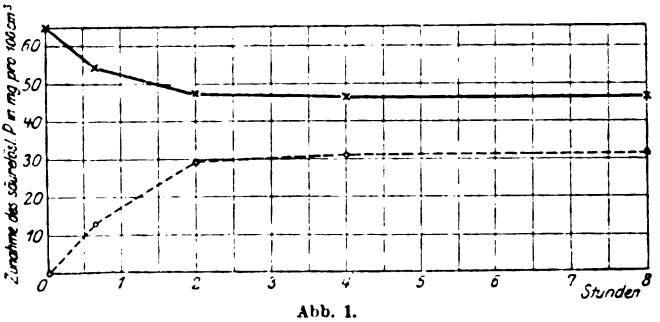


Abb. 1.

—— Serum. ------- Blutkörperchen.

Sämtliche Versuche stimmen im großen ganzen überein. Es zeigt sich, daß die Zunahme der Konzentration von „säurelöslichem Phosphor" bedeutend größer bleibt im Serum als in den Blutkörperchen, sogar nach 3 Stunden; nach 2 Stunden scheint die gesamte Menge von Phosphat, die unter den gegebenen Bedingungen überhaupt in den Blutkörperchen aufgenommen werden kann, das Blutkörperchenhäutchen passiert zu haben. Eine Ausnahme bildet jedoch eine vereinzelte Bestimmung in Versuch 1, indem hier die nach 3 Stunden angestellte Bestimmung eine kleine Vermehrung des „säurelöslichen Phosphors" in den Blutkörperchen offenbart. Diese Vermehrung ist jedoch nicht größer, als daß sie sich aus einem zufälligen Fehler erklären läßt, eine Betrachtung, deren Berechtigung aus der vollständigen Übereinstimmung der drei vorhergehenden im Zeitraum von 40 Min. bis 4 Stunden nach dem Beginn des Versuches angestellten Bestimmungen hervorgeht.

Vergleicht man die Resultate der bei 38° ausgeführten Versuche mit den bei 16° ausgeführten, sieht man, daß in den beiden Versuchen bei 38° eine größere Menge Phosphat in das Blutkörperchen eingedrungen ist, als in den Versuchen bei Zimmer-

temperatur. Der Unterschied ist jedoch kein bedeutender; erst eine größere Versuchsreihe mit Blut verschiedener Herkunft und variierender Phosphatmengen wird zeigen können, ob dieses Verhältnis konstant ist.

Meine Versuche mit Blut außerhalb des Organismus stimmen darin mit den älteren Angaben überein, daß die Phosphate in das Blutkörperchen schwierig eindringen, und daß das meiste des Salzes im Serum verbleibt, so daß die Zunahme des „säurelöslichen Phosphors" im Serum am größten sein wird. Direkte Messungen der Menge, die eindringen kann, wurden meines Wissens nicht angestellt.

Falls der erwähnte Prozeß in dem lebenden Organismus in ähnlicher Weise vonstatten geht wie in vitro, müßte man erwarten, daß die Konzentration des „säurelöslichen Phosphors" in den Blutkörperchen einige Zeit nach dem Aufhören einer intravenösen Injektion zunehmen und darauf langsam abnehmen würde, so daß die Abnahme in den Blutkörperchen einige Zeit nach der Abnahme im Plasma zögernd einträfe, sowie daß die Zunahme in den Blutkörperchen weit geringer wäre als im Plasma. Die an lebenden Tieren angestellten Versuche offenbarten indessen Verhältnisse, die von den in vitro angestellten weit verschieden sind.

Versuch 5: Kaninchen, 2850 g, Urethannarkose. — Die Blutproben wurden der A. carotis d. entnommen. Es wurden für jede Probe etwa 4 ccm entnommen, und es wurde Natriumoxalat im Verhältnis 1 : 700 zugesetzt. Das Plasma wurde sofort nach der Probeentnahme abzentrifugiert, und das Volumen der Blutkörperchen durch Hämatokritbestimmung festgestellt. Von $2^h 32'$ bis $3^h 45'$ wurden 100 ccm 3,6 proz. Na_2HPO_4, 12 H_2O injiziert, im ganzen 312 mg P.

Tabelle V.

Zeit	Plasma Hämatokrit %	Säurelöslicher Phosphor in mg					Bemerkungen
		Pro 100 ccm			Zunahme pr. 100 ccm		
		Blut	Plasma	Blutkörperchen	Plasma	Blutkörperchen	
0	63,0	31,0	1,5	83,9			Normalblut. Injektion begonnen
37 Min.	66,5	46,6	20,5	98,4	19,0	14,5	50 ccm injiziert
1 Std. 13 Min.	66,0	51,8	26,7	101	25,2	16,2	100 ccm injiziert
2 Std. 13 Min.	65,0	40,9	9,9	95,9	8,4	12,0	Injekt. beendigt

Wie aus Tabelle V und Abb. 2 hervorgeht, wo die Analyseresultate angeführt sind, ist die in den Blutkörperchen 37 Minuten nach der Injektion beobachtete Zunahme des „säurelöslichen Phosphors" größer, als nach der in vitro beobachteten langsamen Wanderung der Phosphate durch das Blutkörperchenhäutchen zu erwarten war. Nach dem Aufhören der Injektion sieht man im Laufe der folgenden Stunde die Konzentration im Plasma bedeutend abnehmen, während die Konzentration in den Blutkörperchen fast unverändert bleibt, so daß die Zunahme der Konzentration 1 Stunde nach dem Aufhören der Injektion größer ist in den Blutkörperchen als im Plasma. Dies Verhältnis kann insofern damit übereinstimmen, daß die Phosphate das Blutkörperchenhäutchen sowohl auswärts als einwärts langsam passieren; wie aber spätere Versuche zeigen werden, spielt dabei auch ein anderer Faktor eine große Rolle.

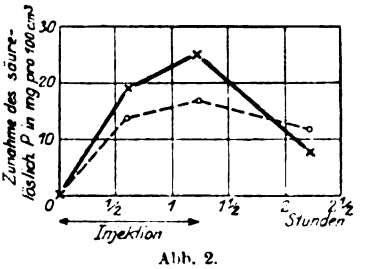


Abb. 2.
— Plasma. ------- Blutkörperchen.

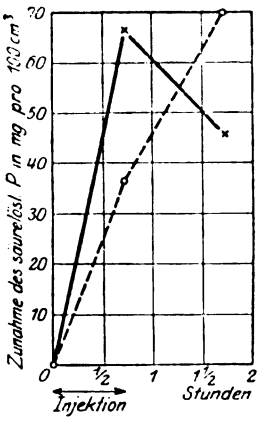


Abb. 3.
——— Plasma.
------- Blutkörperchen.

An den Abb. 1 und 2 sowie an allen folgenden Kurven ist nicht der absolute Wert, sondern die Zunahme der prozentischen Menge von „säurelöslichem Phosphor" in Plasma und Blut zu verschiedenen Zeitpunkten des Versuches angegeben. Die Zunahme ist gemessen im Verhältnis zu den durch Normalbestimmungen gefundenen Werten, und es ist diese Zunahme von „säurelöslichem Phosphor", von der im folgenden stets die Rede sein wird. Das Versuchstier hat in Versuch 5 sicherlich einen bedeutenden Teil der injizierten Phosphatmenge durch die Nieren ausgeschieden, weshalb die Konzentration im Plasma so schnell abnimmt. Um diese Konzentration im Plasma längere Zeit hindurch hoch zu erhalten, wurde an den folgenden Versuchstieren unmittelbar vor der Injektion eine Nephrektomie unternommen.

Versuch 6: Kaninchen 3500 g. Urethannarkose. Nephrectomia duplex. Blutprobe aus A. carotis d. Es wurden durch die V. saphena von

3^h bis 3^h 43′ kontinuierlich 75 ccm 7,2 proz. Na_2HPO_4, 12 H_2O injiziert, d. h. etwa 3 mg pro Kilogramm und Minute. Das Tier wurde 1 Stunde nach dem Aufhören der Injektion getötet. Die Versuchsresultate, die in Tabelle VI angeführt und an Abb. 3 dargestellt sind, werden in Verbindung mit den Resultaten der nächsten Versuche näher besprochen werden.

Tabelle VI.

Zeit	Plasma Hämatokrit %	Säurelöslicher Phosphor in mg					Bemerkungen
		Pro 100 ccm			Zunahme pr. 100 ccm		
		Blut	Plasma	Blutkörperchen	Plasma	Blutkörperchen	
0	67,0	27,8	2,5	80			Normalblut. Injektion begonnen
43 Min.	73,8	81,0	68,5	116	66,0	36	Injekt. beendigt
1 Std. 43 Min.	72,6	76,6	43,6	151	46,1	71	

Versuch 7: Kaninchen, 3100 g, Urethannarkose. Nephrectomia duplex. Blutprobe aus der A. carotis d. Es wurden durch die V. saphena 70 ccm 7,2 proz. Na_2HPO_4, 12 H_2O kontinuierlich von 2^h 26′ bis 3^h injiziert, d. h. etwa 4 mg P pro Kilogramm und Minute. Das Tier starb 4 Stunden und 15 Minuten nach dem Aufhören der Injektion. Die Resultate sind in Tabelle VII und an Abb. 4 verzeichnet.

Tabelle VII.

Zeit	Plasma Hämatokrit %	Säurelöslicher Phosphor in mg					Bemerkung
		pr. 100 ccm			Zunahme pr. 100 ccm		
		Blut	Plasma	Blutkörperchen	Plasma	Blutkörperchen	
0	61,0	31,7	3,7	75,5			Normalblut. Injekt. begonnen
34 Min.	70,5	82,6	80,0	88,9	76,3	13,4	Injekt. beendigt
49 Min.	69,5	81,0	67,5	101	63,7	25,5	
2 Std. 4 Min.	68,1	79,2	45,2	152	41,5	76,7	
4 Std. 4 Min.	70,0	80,4	41,1	172	37,4	96,5	

In den Versuchen 6 und 7 wurde eine hypertonische Lösung injiziert, um im Plasma ohne gleichzeitige Zuführung einer zu großen Flüssigkeitsmenge eine hohe Konzentration zu erzielen. In dem folgenden Versuch (8) wurde eine beinahe isosmotische Lösung injiziert, um zu sehen, ob die Verhältnisse dadurch wesentlich abgeändert würden.

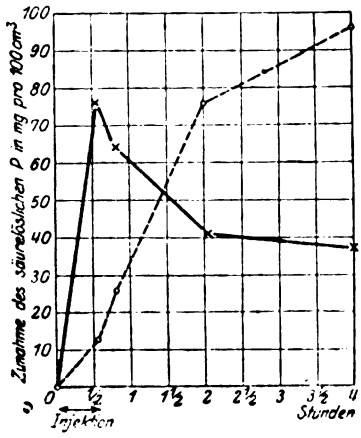


Abb. 4.
——— Plasma. ------- Blutkörperchen.

Versuch 8: Kaninchen, 2500 g, Urethannarkose. Nephrectomia duplex. Blutprobe aus der A. carotis d. Es wurden kontinuierlich von 2^h 30′ bis 3^h 33′ 100 ccm 3,6 proz. Na_2HPO_4, d. h. etwa 2 mg P pro Kilogramm und Minute injiziert. Während des Versuches waren keine Vergiftungssymptome ersichtlich. Das Tier war, als es 5 Stunden nach dem Aufhören der Injektion getötet wurde, im Begriff, aus der Narkose zu erwachen. Die Versuchsresultate sind in Tabelle VIII und an Abb. 5 verzeichnet.

Tabelle VIII.

Zeit	Plasma Hämatokrit %	Säurelöslicher Phosphor in mg pr. 100 ccm			Zunahme pr. 100 ccm		Bemerkung
		Blut	Plasma	Blutkörperchen	Plasma	Blutkörperchen	
0	63,1	29,3	3,8	71,3			Normalblut. Injekt. begonnen
63 Min.	68,5	70,3	48,4	117	44,2	45,7	Injekt. beendigt
1 Std. 63 Min.	68,0	62,6	37.6	116	33,8	44.7	
3 Std. 63 Min.	69,5	60,8	32.0	126	28,2	54,7	
5 Std. 63 Min.	73,0	58,1	30,9	139	27,1	67,7	

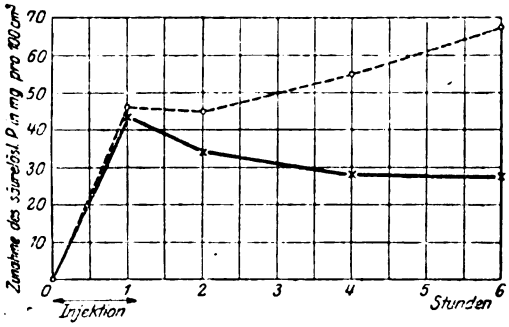


Abb. 5.
——— Plasma. ------- Blutkörperchen.

Die pro Kilogramm injizierte Phosphatmenge war in den drei Versuchen nicht sehr verschieden (bzw. 130, 140 und 120 mg in Versuch 6, 7 und 8). In Versuch 7, wo die Injektion im Laufe von 34 Minuten vonstatten ging, ist die Vermehrung von „säurelöslichem Phosphor" in den Blutkörperchen sofort nach dem Aufhören der Injektion nur gering, in Versuch 6, wo die Injektion im Laufe von 43 Minuten

vonstatten ging, ist die Vermehrung in den Blutkörperchen bedeutend größer, und in Versuch 8, wo die Injektion im Laufe von 63 Minuten vonstatten ging, ist die Vermehrung beim Aufhören der Injektion in den Blutkörperchen sozusagen ebenso groß wie im Plasma. Bereits daraus ist ersichtlich, daß die Einwanderung von Phosphat in die Blutkörperchen am lebenden Tier recht langsam verläuft.

Nach dem Aufhören der Injektion nimmt die Konzentration von „säurelöslichem Phosphor" im Plasma ab, während sie in allen drei Versuchen in den Blutkörperchen zuzunehmen fortfährt, so daß man bei Beendigung des Versuches in den Blutkörperchen eine weit größere Konzentration findet als im Plasma, ja sogar eine größere Konzentration als die unmittelbar nach dem Aufhören der Injektion im Plasma bestehende, wo diese ihren höchsten Wert erreichte. So findet sich in Versuch 7 (Abb. 4) sofort nach dem Aufhören der Injektion einer Vermehrung des „säurelöslichen Phosphors" im Plasma von 76,3 mg pro 100 ccm und in den Blutkörperchen eine solche von 13,4; in den folgenden Stunden nimmt aber die Konzentration im Plasma ab, während sie in den Blutkörperchen stark zunimmt, so daß die Vermehrung des prozentischen Gehalts an „säurelöslichem Phosphor" im Plasma nach $3^1/_2$ Stunden nur 37,4 mg pro 100 ccm beträgt, während sie gleichzeitig in den Blutkörperchen 96,5 oder $2^1/_2$ mal größer ist als im Plasma. Es handelt sich hier um Zahlen, die weit außerhalb der Fehlerquelle der Versuche liegen. Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir denn auch in Versuch 6 und 8, von denen namentlich letzterer der vielen Bestimmungen wegen ein besonderes Interesse darbietet. Aus den Versuchen ersieht man ferner, daß der in Frage stehende Prozeß langsam verläuft; er ist in meinen Versuchen 5 Stunden nach dem Aufhören der Injektion noch nicht beendigt, indem die Konzentration in den Blutkörperchen fortwährend zunimmt (Versuch 8).

Indem ich nun dazu übergehe, meine Resultate der Versuche in vitro mit denen an dem lebenden Tier zu vergleichen, habe ich zu bemerken, daß die Konzentration von „säurelöslichem Phosphor" sofort nach dem Aufhören der Injektion in Versuch 6, 7 und 8 bzw. 81, 82,6 und 70,3 mg pro 100 ccm Blut beträgt, oder mit anderen Worten, daß sozusagen dieselbe Konzentration vorliegt wie in der Blutmischung, mit der die Versuche in vitro an-

gestellt wurden. Zu einem gewissen Zeitpunkt wird also in beiden Versuchsreihen das Blut prozentisch ungefähr dieselbe Menge Phosphat enthalten, aber darauf verlaufen die beiden Versuchsreihen vollkommen verschieden. So fällt in Versuch 4 (Versuch in vitro) die Konzentrationsvermehrung im Serum, die unmittelbar nach dem Phosphatszuatz — also bevor die Phosphate durch das Blutkörperchenhäutchen zu dringen begannen — nach der Berechnung 64,4 mg pro 100 ccm ausmachte, im Laufe von 2 Stunden bis auf 45,6, während die Konzentration in den Blutkörperchen gleichzeitig um 31 mg pro 100 ccm zunahm und in den folgenden 6 Stunden keine weiteren Veränderungen eintrafen. Die Vermehrung blieb also im Serum am größten.

Die am lebenden Tiere angestellten Versuche (6, 7 und 8) wiesen, wie erwähnt, ein ganz anderes Verhältnis auf; hier nimmt während des ganzen Versuches bis 5 Stunden nach dem Aufhören der Injektion die Konzentration von „säurelöslichem Phosphor" in den Blutkörperchen zu, während sie nach dem Aufhören der Injektion im Plasma stets abnimmt, und bei Beendigung der Versuche ist die durch die Phosphatinjektion hervorgerufene Konzentrationssteigerung weit größer in den Blutkörperchen als im Plasma.

Es ist also ein bedeutender Unterschied in betreff des Eindringens der Phosphate in die Blutkörperchen innerhalb und außerhalb des Organismus nachgewiesen worden. Der außerhalb des Organismus, in vitro, verlaufende Prozeß besteht, wie bereits früher erwähnt, wahrscheinlich darin, daß verschiedene Phosphationen, da die Spannung außerhalb der Blutkörperchen am größten ist, in dieselben hineinwandern, während gleichzeitig andere Ionen, vielleicht Cl-Ionen, aus den Blutkörperchen hinauswandern, ein Prozeß, der sich fortsetzt, bis zwischen den Ionen außerhalb und innerhalb des Blutkörperchenhäutchens ein Gleichgewicht eingetreten ist. Der Prozeß, der im Organismus stattfindet, kann aber jedenfalls nur bis zu einem gewissen Grade von derselben Natur sein, denn wenn dies der Fall wäre, würde man nicht die Konzentrationssteigerung des „säurelöslichen Phosphors" stundenlang nach dem Aufhören der Injektion in den Blutkörperchen fortwährend zunehmen sehen können, während sie im Plasma fällt, um schließlich in den Blutkörperchen 2—3 mal so groß zu sein wie im Plasma. Die am nächsten

liegende Erklärung dieser Erscheinung ist vermeintlich, daß die Phosphationen, allmählich wie sie in die Blutkörperchen einwandern, irgendwie „gebunden" werden, d. h. in nicht ionisierte Verbindungen übergehen, so daß mehr Phosphationen Gelegenheit gegeben wird in die Blutkörperchen einzuwandern. An welchen Stoff die Phosphationen gebunden werden und wie der Prozeß im Organismus vonstatten geht, davon offenbaren die Versuche nichts. Möglicherweise handelt es sich um einen Prozeß, der auch normaliter im Organismus stattfinden kann, denn man findet ja bei den meisten Tieren in den Blutkörperchen eine verhältnismäßig große Menge von „säurelöslichem Phosphor".

Zusammenfassung.

1. Nach Zusatz von einer Lösung von Na_2HPO_4 zu defibriniertem Kaninchenblut werden im Laufe der ersten 2 Stunden eine gewisse Menge Phosphationen in die Blutkörperchen einwandern, worauf dieser Prozeß aufhört. Die durch Zusatz der Salzlösung bewirkte Steigerung der Konzentration von „säurelöslichem Phosphor" ist danach immer bedeutend größer im Serum als in den Blutkörperchen. Es ist anzunehmen, daß die in die Blutkörperchen hineintretenden Phosphationen ihren Charakter als solche bewahren.

2. Wird einem nephrektomierten Kaninchen eine Lösung von Na_2HPO_4 intravenös injiziert, so wird die Konzentration von „säurelöslichem Phosphor" im Plasma in den auf das Aufhören der Injektion folgenden Stunden langsam abnehmen. Gleichzeitig steigt die Konzentration in den Blutkörperchen fortwährend und kann sehr bedeutende Werte erreichen, so daß die Konzentrationssteigerung von „säurelöslichem Phosphor" in den Blutkörperchen nach und nach 2—3 mal größer werden kann als die im Plasma.

Es ist anzunehmen, daß die in die Blutkörperchen eingewanderten Phosphationen weitaus zum größten Teil in nicht dissoziable Verbindungen übergehen, wahrscheinlich indem sie sich mit Stoffen verbinden, die in den Blutkörperchen vorhanden sind. Dieser Prozeß scheint nur im lebenden Organismus stattzufinden.

Studien über die Faserstoffgerinnung. II.

Über das „gebundene" Chlor im Blute.

Von

W. Falta und **M. Richter-Quittner.**

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserin-Elisabethospitals in Wien.)

(Eingegangen am 13. Dezember 1920.)

Aus einer größeren Versuchsreihe, welche wir über das Verhalten des Chlor bei der Faserstoffgerinnung vor zwei Jahren veröffentlichten, haben wir den Schluß gezogen, daß sich im Plasma, nicht aber im Serum ein Teil des Chlors in „gebundener", nicht ionisierter Form vorfindet, und daß dieses im Plasma gebundene Chlor bei der Gerinnung „frei" wird. Zur Bestimmung des „Gesamtchlors" haben wir damals die feuchte Veraschung von Koranyi verwendet, bei der die organischen Bindungen zerstört werden. Die Bestimmung der „freien" Chloride erfolgte mittels Enteiweißung nach der Methode von Hoesslin oder von Rogée-Frisch. Wir konnten zeigen, daß sich im Plasma im Gegensatz zum Serum sehr bedeutende Unterschiede zwischen den nach Koranyi und Rogée-Frisch gefundenen Chlorwerten ergeben.

Da das gebundene Chlor bei franktionierter Salzfällung in die Fibrinogenfraktur gelangte und durch Auswaschen nicht beseitigt werden konnte, haben wir damals das Vorhandensein einer Fibrinogen-Chloridverbindung im ungeronnenen Blute angenommen.

Im Laufe der letzten zwei Jahre haben wir diese Untersuchungen fortgesetzt und fanden, daß die damals erhobenen Befunde zwar richtig sind, daß aber die daraus gefolgerten Schlüsse nicht zutreffen. Dies ist der Grund, warum wir heute unsere weiteren diesbezüglichen Beobachtungen mitteilen wollen, obwohl viele der hierhergehörigen Fragen noch nicht geklärt sind.

Die Veraschungs- und Fällungsmethoden ergeben im Gesamtblut, im Plasma und in allen serösen Körperflüssigkeiten fast immer verschiedene Chlorwerte, im Serum hingegen denselben Chlorgehalt. Gelingt es, das Plasma durch Zusatz von Koagulen zur Gerinnung zu bringen, so verschwinden diese Differenzen der beiden Methoden ebenfalls wieder. Wir nahmen daher das Vorhandensein von kolloidal gebundenem Chlor im Plasma an und glaubten an eine Bindung von NaCl an Fibrinogen. Dies ist aber nicht der Fall. Wenn man Gesamtblut durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert, das Fibrin entfernt und in der restierenden Flüssigkeit die Chloride nach beiden Methoden bestimmt, so findet sich regelmäßig „gebundenes" Chlor in diesem defibrinierten

Tabelle I.

Bestimmung von Gesamtchlor und „freiem" Chlor*).

Datum	Diagnose	Blutkörperchenvolum.	Na-Citratblut		Schüttelblut		Na-Citrat-Plasma		Schüttelserum		Chlorgeh. d. Blutkörperch.
			Ges.-Chlor	„freies" Chlor	Ges.-Chlor	„freies" Chlor	Ges.-Chlor	„freies" Chlor	Ges.-Chlor	„freies" Chlor	mg
13. I. 1920	Amalia, M. normal	41,4	0,238	0,218	0,238	0,217	0,399	0,364	0,380	0,379	0
							0,407	0,372	0,380	0,579	
5. III. 1920	Marie, P. Hypertonie	50,0	0,243	0,218	0,246	0,220	0,479	0,446	0,508		0
			0,243	0,224	0,248	0,224	0,479	0,446	0,500		
13. III. 1920	Ochsenblut	46,6	0,259	0,244	0,264	0,238	0,507	0,450	0,500	0,500	0
			0,263	0,240	0,260	6,244	0,500	0,455	0,500	0,500	
16. III. 1920	Lorenz, Sch. Nephritis	46,5	0,243	0,215	0,248	0,213	0,477	0,428	0,484	0,480	4,0
			0,243	0,210	0,244	0,219	0,480	0,420	0,484	0,480	
28. V. 1920	Pferdeblut		0,272	0,240	0,273	0,235	0,430	0,400	0,424	0,424	
			0,270	0,240	0,274	0,235	0,432	0,400	0,424	0,424	
30. IX. 1920	S. Nephritis	48,3	0,200	0,150	0,200	0,153	0,370	0,294	0,370	0,364	18,0
			0,200	0,150	0,200	0,153	0,370	0,294	0,370	0,364	
9. XI. 1920	Ochsenblut	45,0			0,237	0,209			0,394	0,391	0
					0,237	0,209			0,394	0,391	

*) Auch diese Versuche zeigen wieder, daß die Blutkörperchen kein oder nur Spuren von Chlor enthalten.

Blute, das ja überhaupt gar kein Fibrinogen mehr enthält. Die Versuche der Tabelle I zeigen, daß die Differenzen zwischen „Gesamtchlor" (Veraschung nach Koranyi) und „freiem" Chlor (Fällungsanalyse nach Oppler mit Methaphosphorsäure) im Natriumcitratblut und im defibrinierten Blute gleich groß sind. Wird das defibrinierte Blut, von uns hier mit „Schüttelblut" be-

zeichnet, zentrifugiert, so erhält man ein Serum, von uns „Schüttelserum" genannt, in welchem die verschiedenen Methoden der Chlorbestimmung wieder identische Werte ergeben, genau so wie wir es früher beim Spontanserum, das durch spontane Gerinnung erhalten wurde, zeigen konnten.

Werden zu einem Schüttel- oder Spontanserum Blutkörperchen im gleichen Mengenverhältnis, wie sie sich im strömenden Blute finden, zugesetzt, so tritt eine „Bindung" des Chlors auf, es findet sich in dieser Mischung von Serum und Blutkörperchen genau so viel gebundenes Chlor wie im Natriumcitratblut.

Tabelle II.

Untersuchung von serösen Körperflüssigkeiten.

Datum	Bezeichnung	Diagnose	N	Gesamt-Chlor (NaCl)	„Freies" Chlor (NaCl)	Bemerkung
13. XII. 1918	Ascitis			0,331 (0,563)	0,309 (0,510)	
5. II. 1919	Ascitis	Insuff. et stenos. v. mitralis		0,287 0,287 (0,475)	0,260 0,260 (0,430)	
18. II. 1919	Pleuritis Punktat	Pleuritis		0,234 (0,387)	0,199 (0,329)	
27. II. 1919	Ödem-flüssigkeit	Stauungs-ödem	0,125 0,125	0,393 0,393 (0,649)	0,362 0,362 (0,597)	
10. IX. 1919	Pleuritis Punktat			0,376 0,370 (0,619)	0,343 0,340 (0,567)	
13. X. 1919	Ödem-flüssigkeit	Stauungs-ödem	0,602 0,600	0,213 0,213 (0,351)	0,148 0,148 (0,245)	
28. X. 1919	Pleuritis Punktat			0,163 (0,270)	0,158 0,150 (0,261)	
19. XI. 1920	Ascitis	Carcinom		0,370 0,375 (0,620)	0,327 0,327 (0,540)	Leicht getrübt, gerinnt auch nach monatelangem Stehen nicht
24. XI. 1920	Ascitis	Carcinom		0,389 0,389 (0,642)	0,362 0,362 (0,598)	Leicht getrübt, gerinnt nach 4 Tagen
29. XI. 1920	Ascitis	Nephrose + Nephritis	0,729 0,729	0,364 0,364 (0,600)	0,318 0,318 (0,524)	Stark chylös, lipäm., gerinnt auch nach monatelangem Stehen nicht

In neuester Zeit hat sich Stefan Rusznyak mit dem Studium der Bindung des Chlors im Plasma und Serum befaßt. Er bestätigt unsere Befunde über das verschiedene Verhalten von Plasma und Serum bei der Bestimmung der Chloride mit Hilfe der Veraschung einerseits, der Fällungsanalyse andererseits. Er macht aber für die gefundenen Differenzen dieser beiden Methoden nur die verschiedene Eiweißkonzentration verantwortlich und vertritt die Anschauung, daß die Differenzen zwischen Veraschungs- und Fällungsanalyse um so größer sind, je mehr Eiweiß die untersuchte Lösung enthält. Dies kann aber unserer Meinung nach nicht richtig sein. Wir haben in Tabelle II Chlorbestimmungen in einigen serösen Körperflüssigkeiten zusammengestellt. Diese Flüssigkeiten enthalten zum Teil außerordentlich wenig Eiweiß, z. B. in einem Fall nur 0,12% N, während das Blutserum 10 mal so viel Eiweißstickstoff enthält, nichtsdestoweniger haben wir in diesem Fall 71 mg „gebundenes" Chlor, während das Blutserum mit seinem viel höheren Eiweißgehalt überhaupt kein gebundenes Chlor enthält. Auch im Gesamtblut mit durchschnittlich 35% Eiweiß können die Differenzen der beiden Methoden in einigen seltenen Fällen verschwindend klein sein, z. B.:

Tabelle III.

Chloridebestimmung bei Änderung des Dispersitätsgrades der Lösung.

Datum	Bezeichnung	Ges. Chlor	„Freies" Chlor	N.	Bemerkungen
22. XI. 1920	Ludwig	0,424	0,417		Spontan geronnenes Serum.
		0,420	0,417		
	Br.	0,212	0,188		10 ccm Serum + 10 ccm einer kolloidal. Lösung v. Eisessigkollod.
		0,212	0,188		
	Hypertonie		0,208		10 ccm Serum + 10 ccm Wasser.
			0,208		
29. XI. 1920	Schm.	0,364	0,318	0,729	Ascites.
	Nephrose, stark lipämisch chylöser Ascites	0,364		0,729	
		0,182	0,170		10 ccm Ascites + 10 ccm H_2O.
		0,182	0,170		
		0,182	0,130		10 ccm Ascites + 10 ccm ein. 10 proz. Lösung von Gummi arabicum.
		0,182	0,130		
		0,183	0,134	1,246	10 ccm Ascites + 10 ccm einer Ovalbuminlösung.
		0,183	0,134	1,246	
		0,321	0,321		Ascites ultrafiltriert, nicht ausgewaschen. Filtrat untersucht.
		0,092	0,071		100 ccm Ascites auf ein Volumen von 25 ccm eingeengt.

Tabelle III (Fortsetzung).

Datum	Bezeichnung	Ges. Chlor Koranyi	„Freies" Chlor Oppler	Bemerkungen
20. XI. 1920	Ascites v. St. Carcinom	0,389	0,362	Ascites.
		0,389	0,362	
			0,181	10 ccm Ascites + 10 ccm H_2O.
		0,194	0,142	10 ccm Ascites + 10 ccm einer 10proz.
		0,194	0,142	Lösung von Gummi arabicum.
			0,093	10 ccm Ascites + 20 ccm einer 10proz.
			0,093	Lösung von Gummi arabicum.
		0,357	0,358	10 ccm Ascites ultrafiltriert, nicht
		(0,590)	(0,592)	ausgewaschen. Filtrat untersucht.
		0,194	0,166	100 ccm Ascites auf ein Volumen von
		(0,320)	(0,274)	50 ccm eingeengt.
6. XII. 1920	Anton N. Plasma	0,366	0,319	Ursprüngliches Natriumcitratplasma.
		0,366	0,319	
		(0,604)	(0,527)	
		0,345	0,345	Nacitratplasma ultrafiltriert, nicht
		0,340	0,345	ausgewaschen. Filtrat untersucht.
		(0,570)	(0,570)	
		0,369	0,370	Nacitratplasma ultrafiltriert mit H_2O
		0,369	0,370	ausgewaschen auf das ursprüngliche
		(0,610)	(0,612)	Volumen berechnet.
		0,362	0,291	Nacitratplasma ultrafiltriert, Rück-
		(0,598)	(0,481)	stand untersucht.
6. XII. 1920	Anton N. Serum	0,371	0,363	Ursprüngliches Serum.
		0,369	0,363	
		(0,600)	(0,600)	
		0,387	0,347	Serum ultrafiltriert, Rückstand unter-
		(0,640)	(0,572)	sucht.

Katzenblut vom 20. XII. 1918: NaCl im Natriumcitratblut nach Koranyi 0,252, nach Hösslin 0,242.

Aus diesen Versuchen geht mit Sicherheit hervor, daß die Menge des „gebundenen" Chlors nicht von der Menge des kolloidal gelösten Eiweißes abhängen muß. Dafür spricht auch die Beobachtung, daß sich der Wert für das „freie" Chlor in vielen Fällen nicht ändert, wenn man das Plasma oder den Ascites mit destilliertem Wasser auf die Hälfte verdünnt. Die Verhältnisse sind augenscheinlich viel komplizierter als dies Ruszn yak annimmt.

Hingegen zeigen die Versuche der Tabelle III, daß bei Änderung des Dispersitätsgrades der Lösung Änderungen der Werte für das „freie" Chlor auftreten können. Ein Ascites wurde mit einer 10proz. Lösung von Gummi arabicum auf die Hälfte verdünnt. Im ursprünglichen Ascites finden sich 46 mg „gebundenes" Chlor, in dem mit der gleichen Menge Wasser versetzten wären

zu erwarten 23 mg, es finden sich nur 12 mg, nach Zusatz der Gummi arabicum-Lösung finden sich aber 52 mg „gebundenes" Chlor. Ein menschliches Serum, das 7 mg „gebundenes" Chlor enthielt, wurde mit einer kolloidalen Lösung von Eisessigkollodium versetzt. Es fanden sich nun 24 mg „gebundenes" Chlor. Diese Versuche zeigen, daß es gelingt, durch Zusatz eines Kolloides experimentell eine „Bindung" von Chlor herbeizuführen. Es ist sicher, daß die Menge des „gebundenen" Chlors vom Dispersitätszustand der in der Lösung vorhandenen Kolloide abhängt.

Rusznyak zeigte, daß bei der Ultrafiltration das gesamte Chlor sowohl des Plasmas als auch des Serums durch das Filter geht. Wir haben diese Versuche nachgemacht, allerdings unter Verwendung viel geringerer Drucke als Rusznyak. Die Differenzen zwischen Veraschungs- und Fällungsanalyse verschwinden im Ultrafiltrat, das vollkommen frei von Kolloiden ist, aus leicht begreiflichen Gründen. Wir finden aber im Gegensatz zu Rusznyak im Ultrafiltrat weniger Chlor als im ursprünglichen Plasma nach der Methode von Koranyi. Erst wenn das Filter gründlich mit Wasser nachgewaschen wird, können wir das gesamte Chlor auch im Ultrafiltrat nachweisen.

Unsere Versuche lassen noch viele hierhergehörige Fragen ungeklärt. Es ist interessant und merkwürdig, daß die Verdünnung mit Wasser in 2 Versuchen keinen wesentlichen Einfluß auf die Menge des „gebundenen" Chlors hat, während beim Konzentrieren eines Ascites durch Eindampfen, wie dies Versuche der Tabelle III zeigen, die Menge des „gebundenen" Chlors steigt. Interessant und sehr schwer zu erklären ist das verschiedene Verhalten von Plasma und Serum bezüglich des Chlornachweises, obwohl diese beiden Flüssigkeiten in bezug auf ihre chemische Zusammensetzung nach den bisherigen Untersuchungen sich verhältnismäßig wenig (Fibrinogenstickstoff) unterscheiden. Allerdings zeigen sie biologisch wesentliche Differenzen. Wir erinnern z. B. an das Auftreten einer vasokombaktorischen Eigenschaft bei der Gerinnung.

Wir glauben auf Grund unserer Beobachtungen heute über den Zustand des Chlors in physiologischen Körperflüssigkeiten folgendes sagen zu können.

Plasma und Serum zeigen bei Anwendung verschiedener Chlorbestimmungsmethoden ein verschiedenes Verhalten. Mit

den Fällungsanalysen erhält man im Plasma weniger Chlor als mit Hilfe der feuchten oder trockenen Veraschung, bei der alle organischen Substanzen zerstört werden. Es wäre aber falsch, daraus den Schluß ziehen zu wollen, daß ein Teil des Chlors bzw. des NaCl an Fibrinogen oder Eiweiß gebunden ist.

Es ist bekannt, daß kolloidale Bindungen in hohem Grade von dem Dispersitätsgrad beeinflußt werden. Der Dispersitätsgrad hängt nun von der Art und von der Konzentration der vorhandenen Kolloide und ebenso von der der Krystalloide ab. Wir können daher aus unseren Versuchen den Schluß ziehen, daß der Dispersitätsgrad von Plasma und Serum sehr verschieden sein muß oder besser gesagt, daß bei der Faserstoffgerinnung Änderungen des Dispersitätsgrades auftreten, die bis nun noch nicht bekannt sind.

In Übereinstimmung mit Rusznyak müssen wir zugeben, daß der Beweis für das Vorhandensein von kolloidal gebundenem Chlor im Blute oder anderen Körperflüssigkeiten bisher nicht erbracht ist. Die von uns benützten Methoden erscheinen hierfür ungeeignet. Wenn bei der Fällungsanalyse ein Teil des im Plasma vorhandenen Chlors der Bestimmung entgeht, so spricht dies dafür, daß wir es im Plasma, nicht aber im Serum mit einer Schutzkolloidwirkung zu tun haben.

Diese Versuche lassen aber nicht den Schluß zu, daß ein Teil des Chlors im Plasma in nicht ionisierter Form vorhanden wäre Um diese Frage entscheiden zu können, ist es notwendig, die Konzentration der freien Chlorionen im Plasma und Serum zu messen. Für solche Bestimmungen dürfte die Methode, die von Brinkman und van Dam für die Messung der freien Calciumionenkonzentration ausgearbeitet wurde, in modifizierter Form anwendbar sein. Mit derartigen Versuchen sind wir beschäftigt.

Wir können also vorderhand nur so viel sagen, daß die von uns und auch von Rusznyak beobachteten Differenzen im Plasma bei Verwendung der beiden Chlorbestimmungsarten von dem Dispersitätsgrad der untersuchten Flüssigkeit abhängig sind. Dieser ist wieder abhängig von der Kolloidkonzentration, also in physiologischen Flüssigkeiten, in erster Linie von dem Eiweißgehalt, ohne daß wir behaupten wollen, daß einem höheren Eiweißgehalt ein größerer Gehalt an gebundenem Chlor entsprechen muß. Der Dispersitätsgrad eines Kolloiden hängt aber, wie schon oben

erwähnt, auch noch von vielen anderen Faktoren ab, die wir zum Teil heute noch nicht überblicken, von der Art und der Menge der vorhandenen Salze und Ionen, von der H_1 HCO_3 und Ca-Ionenkonzentration usw. Es ist sehr wahrscheinlich, daß auch die Blutgase hierbei eine große Rolle spielen.

Wir können uns sehr gut vorstellen, daß die Temperatur, das Zentrifugieren und viele andere technische Momente von Einfluß sind.

Zusammenfassung.

1. Im Plasma und allen von uns untersuchten serösen Körperflüssigkeiten, nicht aber im Serum sind die Chlorwerte, welche nach einer Veraschungsmethode erhalten wurden, höher als die mittels Fällungsanalyse bestimmten.

2. Diese Differenz der beiden Methoden hängt vom Dispersitätszustand der untersuchten Flüssigkeiten ab.

3. Diese Differenz ist aber der Eiweißkonzentration nicht immer proportional, da viele Trans- und Exsudate mit sehr wenig Eiweiß doch sehr viel „gebundenes" Chlor enthalten.

4. Ob diesem „gebundenen" Chlor klinisch und biologisch eine Bedeutung zukommt, ist noch nicht bekannt.

5. Bei der Gerinnung kann es zu weitgehenden Änderungen des Dispersitätsgrades kommen.

6. Der Beweis von dem Vorhandensein eines kolloidalgelösten, nicht ionisierten Chlor im Plasma ist vorläufig noch nicht erbracht worden.

7. Zur Bestimmung der Chloride in physiologischen Flüssigkeiten ist die Methode der feuchten Veraschung von Koranyi wegen ihrer Einfachheit und Genauigkeit am meisten zu empfehlen. Fällungsanalysen sind für derartige Analysen unbrauchbar.

Literatur.

[1]) E. Brinkman und E. van Dam, A method for the determination of the ionenkonzentration in ultrafiltrates and other protein free solutions. Proc. **22**, 1. 1919. — [2]) W. Falta und M. Richter-Quittner, Studien über die Fasserstoffgerinnung. Diese Zeitschr. **91**, 381. 1918. — [3]) B. Oppler, Die Bestimmung des Traubenzuckers im Harn und Blut. Zeitschr. f. physiol. Chemie **75**, 71. 1911. — [4]) Stefan Rusnyak, Physikalisch-chemische Untersuchungen an Körperflüssigkeiten, I. Diese Zeitschr. **110**, 60. 1920.

Autorenverzeichnis.

Bau, Arminius. Die Bestimmung der Oxalsäure und der Oxalursäure im Harn und im Kot. S. 221.

Bornstein, A. Über Adrenalinglykämie. S. 157.

Cobet, Rudolf. Über Kochsalzresorption im unteren Dünndarm. S. 33.

Deutschland, A. s. Völtz.

Dietrich, W. s. Völtz.

Ege, Rich. Wie ist die Verteilung der Glucose zwischen den roten Blutkörperchen und der äußeren Flüssigkeit zu erklären? Zur Physiologie des Blutzuckers. V. S. 88.

Euler, H. v., I. Laurin und A. Pettersson. Anpassung einer Oberhefe an das Gärsubstrat Galaktose. S. 277.

Falta, W. und M. Richter-Quittner. Über die chemische Zusammensetzung der Blutkörperchen. S. 145.

— — Studien über die Faserstoffgerinnung. II. Über das „gebundene" Chlor im Blute. S. 310.

Herzfeld, E. und R. Klinger. Gibt es Abwehrfermente gegen Polysaccharide? S. 27.

Hirai, Kinsaburo. Über die Synthese des d, l-3,4-Dioxyphenylalanins. S. 67.

— Über die Bildung von p-Oxyphenylessigsäure und p-Oxyphenylacrylsäure aus l-Tyrosin durch Bakterien. S. 71.

Iversen, Poul. Untersuchungen über die Verteilung der Phosphate zwischen Blutkörperchen und Plasma innerhalb und außerhalb des Organismus. S. 297.

Jacoby, Martin. Über die auxoureatische Funktion des Serums. S. 152.

Káš, Václav s. Němec.

Kießling, Werner. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens am isolierten Froschherzen. S. 292.

Klinger, R. s. Herzfeld.

Lang, S. u. H. Lang. Über den Einfluß von Fluornatrium auf die Wirkung der Pankreasdiastase. S. 165.

Laurin, J. s. Euler.

Meyer, Hans. Studien zur Methodik der refraktometrischen Serumuntersuchung auf Abwehrfermente (Mikro-Abderhalden-Reaktion). S. 194.

Němec, Antonín und Václav Káš. Über den Einfluß des Selens auf die Entwicklung einiger Schimmelpilze aus der Gattung Penicillium. S. 12.

Oesterlin, E. s. Ruß.

Otsuka, Ichiro. Über den Einfluß verschiedener Metallsalze auf die Bildung bakterieller Abbauprodukte von Aminosäuren. S. 81.

Parnas, J. K. Neue Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Frösche. S. 1.

Pettersson, A. s. Euler.
Richter-Quittner, M. Bemerkungen über den Blutkalk. S. 58.
— s. Falta.
Rusznyák, Stefan. Eine Methode zur Bestimmung der Chloride in kleinen Flüssigkeitsmengen. S. 23.
Ruß, V. K. und E. Oesterlin. Studien über die Phyto-Hämagglutinine. S. 258.
Sasaki, Takaoki. Über eine Farbenreaktion von Glycinanhydrid und der Dipeptidanhydride, welche eine Glycylkomponente in sich schließen. S. 63.
Starlinger, Wilhelm. Über Agglutination und Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten. S. 129.
Völtz, W., W. Dietrich und A. Deutschland. Die Verdaulichkeit und Verwertung der Nährstoffe des Ölpilzes (Endomyces vernalis Ludwig) durch Carnivoren und Herbivoren (Wiederkäuer). S. 111.
Zandrén, Sven. Die Tageskurve der Stalagmone. S. 211.

Zweck und Organisation der medizinischen Referatenblätter

des Verlages Julius Springer in Berlin

Mit dem Bericht über die Weltliteratur des Jahres 1920 haben die im Verlage der Firma **Julius Springer** in Berlin erscheinenden medizinisch-biologischen referierenden Blätter ihre durch den Krieg unterbrochene Tätigkeit wieder begonnen. Es sind dies:

1. **Kongreßzentralblatt für die gesamte innere Medizin und ihre Grenzgebiete.** Offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin. Erscheint wöchentlich.
   Jährlich erscheinen etwa 3—4 Bände.
   Preis pro Band M. 160.—; für Mitglieder der Gesellschaft M. 120.— *
2. **Zentralorgan für die gesamte Chirurgie und ihre Grenzgebiete.** Zugleich Fortsetzung des *Hildebrandschen Jahresberichtes über die Fortschritte auf dem Gebiete der Chirurgie* und des *Glaeßnerschen Jahrbuches für orthopädische Chirurgie.* Herausgegeben unter Aufsicht der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie. Erscheint wöchentlich.
   Jährlich erscheinen etwa 3—4 Bände.
   Preis pro Band M. 160.—; für Mitglieder der Gesellschaft M. 120.— *
3. **Zentralblatt für die gesamte Ophthalmologie und ihre Grenzgebiete.** Zugleich Referatenteil zu *Albrecht von Graefe's Archiv für Ophthalmologie* und Fortsetzung des *Michelschen Jahresberichtes über die Leistungen und Fortschritte im Gebiet der Ophthalmologie.* Erscheint 14 täglich.
   Jährlich erscheinen etwa 2 Bände.
   Preis pro Band M. 160.—; für Abnehmer von „von Graefe's Archiv" M. 140.—
4. **Zentralblatt für die gesamte Kinderheilkunde.** Zugleich Referatenteil der *Zeitschrift für Kinderheilkunde.* Erscheint 14 täglich.
   Jährlich erscheinen etwa 2 Bände. Preis pro Band M. 140. *
5. **Berichte über die gesamte Physiologie und experimentelle Pharmakologie.** Neue Folge des Zentralblattes für Biochemie und Biophysik. Zugleich Fortsetzung des *Hermann-Weißschen Jahresberichtes über die Fortschritte der Physiologie, des Maly-Spiro-Andreaschschen Jahresberichtes über die Fortschritte der Tierchemie oder der physiologischen und pathologischen Chemie.* Heraus-

* Diese Preise werden nur bei direktem Bezug vom Verlag berechnet.

gegeben unter Aufsicht der Deutschen Physiologischen Gesellschaft und der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft. Erscheint 14 täglich.

Jährlich erscheinen etwa 4 Bände.

Preis pro Band M. 200.—; für Mitglieder der beiden Gesellschaften M. 140.—*

6. **Zentralblatt für die gesamte Neurologie und Psychiatrie.** Fortsetzung des von E. Mendel begründeten *Neurologischen Zentralblattes.* Zugleich Referatenteil der *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie* und Referatenblatt der Gesellschaft Deutscher Nervenärzte.

Erscheint 14 täglich.

Jährlich erscheinen etwa 2 Bände.

Preis pro Band etwa M. 160.—; für Mitglieder der Gesellschaft etwa M. 120.—*

7. **Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten sowie deren Grenzgebiete.** Zugleich Referatenteil des *Archivs für Dermatologie und Syphilis* und Fortsetzung des *Dermatologischen Centralblattes.* Erscheint 14täglich.

Jährlich erscheinen etwa 2 Bände. Preis pro Band etwa M. 180.—

In enger Verbindung mit diesen gemeinsam organisierten Blättern erscheint im gleichen Verlage:

8. **Zentralblatt für die gesamte Tuberkuloseforschung.** Organ der Vereinigung der Lungenheilanstaltsärzte und der Gesellschaft Pneumothorax arteficialis.

Erscheint monatlich.

Wird einzeln berechnet; Mitglieder der Vereinigung und der Gesellschaft erhalten 20% Ermäßigung auf den gewöhnlichen Preis

Außerdem ist der Organisation in lockerer Weise angegliedert:

9. **Therapeutische Halbmonatshefte.** Erscheint halbmonatlich.

Jährlich erscheinen 26 Hefte. Preis vierteljährlich M. 16.—

Diese referierenden Blätter verfolgen das Ziel, in rascher, zuverlässiger und vollständiger Weise über die gesamte medizinisch-biologische Weltliteratur zu berichten. Zur Erreichung dieses Zieles ist folgende Organisation geschaffen:

1. Jede wissenschaftlich wertvolle Zeitschrift des In- und Auslandes
   — etwa 400 deutsche und annähernd
   500 ausländische —
   ist vom Verlage für die Organisation beschafft worden. Auf diese Weise ist die Zentralblatt-Organisation die einzige Stelle in Deutschland, vielleicht sogar in der Welt, in der die ganze medizinisch-biologische Zeitschriftenliteratur vereinigt ist.
2. Die einlaufenden Zeitschriften werden täglich von sämtlichen Redakteuren durchgesehen, die zum Referat bezeichneten Arbeiten vom bibliothekarisch vorgebildeten Büropersonal registriert und den vom Redakteur angegebenen Referenten übersandt.

* Diese Preise werden nur bei direktem Bezug vom Verlag berechnet.

Jeder Referent erhält grundsätzlich nur das Referat über Arbeiten auf solchen Gebieten zugewiesen, die er auf Grund eigener wissenschaftlicher Arbeit spezialistisch beherrscht.

Für Einhaltung der dem Referenten gesetzten Frist zur Ablieferung des Referates sorgt die automatische Kontrolle des Büros. Zwecks Arbeitsersparnis besteht die Einrichtung, daß Referate eines Zentralblattes über Arbeiten, die für **mehrere** Disziplinen von Wichtigkeit sind, auch in die Zentralblätter dieser Disziplinen übernommen werden. In allen Fällen jedoch, in denen spezielle Gesichtspunkte für ein Fach in Frage kommen, wird ein besonderes Referat beschafft.

Zur Erfassung auch der Literatur der Grenzgebiete nach den exakten Wissenschaften hin sind mit dem **Chemischen Zentralblatt** und mit den **Physikalischen Berichten** ebenfalls Vereinbarungen zwecks Austausch von Referaten getroffen worden.

Was mit Hilfe dieser Organisation geleistet werden kann, zeigen die bisher vorliegenden Bände der Zentralblätter.

Der Jahrespreis der Blätter ist in der Tat ein erheblicher. Das erklärt sich, ganz abgesehen von den eigentlichen Herstellungskosten, ohne weiteres aus den gewaltigen Unkosten der Beschaffung des gesamten Zeitschriftenmateriales des In- und Auslandes und dem Umfang der Büroorganisation. Immerhin ist der Preis auch des teuersten Blattes unter den heutigen Verhältnissen kaum höher wie der Bezugspreis nur **einer** größeren englischen oder amerikanischen Spezialzeitschrift. Dabei sollen die Zentralblätter den Bezug der ausländischen Literatur wenigstens für die deutschen Leser überflüssig machen, und es wird besonders darauf gesehen werden, daß die **wichtigen** ausländischen Arbeiten so ausführlich referiert werden, daß ein Einblick in das Original im allgemeinen entbehrlich erscheint.

Es sind von seiten des Verlages des weiteren Maßnahmen angebahnt bzw. bereits getroffen worden, die einer Konzentrierung des Referatenwesens und damit einer Entlastung des Büchermarktes dienen. In der Erkenntnis, daß unter den heutigen Umständen einerseits Doppelarbeit vermieden werden muß, anderseits literarische Unternehmungen, die lediglich Referatezwecken dienen, ohne eine vollkommene Organisation ihren Zwecken nicht mehr gerecht werden können, sind eine Anzahl altbekannter medizinischer Jahresberichte in einen engen Zusammenhang mit den betreffenden Zentralblättern gebracht worden: der *Hildebrandsche Jahresbericht über die Fortschritte auf dem Gebiete der Chirurgie* wird mit dem Chirurgischen Zentralorgan vereinigt, in dem auch das *Glaeßnersche Jahrbuch der orthopädischen Chirurgie* aufgeht; der *Hermann-Weißsche Jahresbericht über die Fortschritte der Physiologie* und der *Maly-Spiro-Andreaschsche Jahresbericht über die Fortschritte der Tierchemie oder der physiologischen und pathologischen Chemie* schließen sich mit den Berichten für die gesamte Physiologie zusammen, und der *Michelsche*

ophthalmologische Jahresbericht geht im Zentralblatt für die gesamte Ophthalmologie auf. Es werden jedoch alle diese Jahresberichte bis zur Literatur des Jahres 1919 einschließlich in der alten Weise zu Ende geführt, und die Gemeinsamkeit beginnt erst mit der Literatur des Jahres 1920, die den Anfang der neuen Tätigkeit der Zentralblätter bildet.

Nun hat die Einrichtung der **Jahresberichte** als Nachschlagewerke insofern einen Vorzug gegenüber den wöchentlich oder 14täglich erscheinenden Zentralblättern, als der Nachschlagende in ihnen die gesamte Literatur eines Jahres **kapitelweise** übersichtlich zusammengestellt findet, während bei einem Zentralblatt die Literatur eines bestimmten Gebietes jedesmal **heftweise** zusammengesucht werden muß. Um den Benutzern der Zentralblätter auch diese praktischen Vorzüge der Jahresberichte zu bieten, erhält das gesondert erscheinende Jahresregister jedes Zentralblattes die Form eines Jahresberichtes: in ihm werden nicht nur die sämtlichen Arbeiten eines Jahres systematisch eingeteilt und unter Angabe der Seite des Zentralblattes, auf der das Referat steht, abgedruckt, sondern es sollen auch zusammenfassende kritische Übersichten auf Grund der im Zentralblatt erschienenen Referate über jedes größere Kapitel von besonders berufener Seite beigegeben werden. Diese Jahresberichte erscheinen teilweise im gemeinsamen Verlage Julius Springer in Berlin und J. F. Bergmann in München.

Der Verlag ist der Ansicht, daß diese Kombination von Zentralblatt und Jahresregister eine wirklich vollkommene Lösung der Frage des Referatewesens darstellt.

Es ist zu hoffen, daß die geschilderte Zentralblattorganisation das Interesse und die Unterstützung jedes auf dem Gebiete der Medizin wissenschaftlich Tätigen findet. Sie erfordert auf Jahre hinaus große Opfer des Verlages, der sich bei Herausgabe der Zentralblätter nicht etwa, wie das „Chemische Zentralblatt" oder die „Physikalischen Berichte", auf **materielle Hilfe** einer großen wissenschaftlichen Gesellschaft stützen kann, sich vielmehr mit der **moralischen** Unterstützung begnügen muß, die die **Deutsche Gesellschaft für innere Medizin**, die **Deutsche Gesellschaft für Chirurgie**, die **Deutsche Physiologische Gesellschaft**, die **Deutsche Pharmakologische Gesellschaft**, die **Gesellschaft Deutscher Nervenärzte** und die **Vereinigung der Lungenheilanstaltsärzte** den jeweilig in Betracht kommenden Zentralblättern zuteil werden lassen.

Es ist deshalb wünschenswert, daß die Leiter der Institute, Kliniken und Krankenhäuser, soweit sie dazu in der Lage sind, nicht nur für sich selbst sondern auch für ihre Institute die Zentralblätter halten. Sie ermöglichen durch ihre Unterstützung ungestörte Fortführung der gesamten Organisation und der einzelnen Blätter, die unter den jetzigen Verhältnissen einen Ersatz für die medizinische Weltliteratur zu bilden berufen sind.

Berlin W 9, Linkstr. 23 24.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer.

Einstein-Literatur

aus dem Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

Raum-Zeit-Materie. Vorlesungen über allgemeine Relativitätstheorie. Von **Hermann Weyl.** Vierte, erweiterte Auflage. Mit 15 Textfiguren. Preis M. 48.— (zuschlagfrei)

Das Raum-Zeit-Problem bei Kant und Einstein. Von **Ilse Schneider.** Preis M. 12.— (zuschlagfrei)

Die Grundlagen der Relativitätstheorie. Populärwissenschaftlich dargestellt von **Rudolf Lämmel** in Zürich-Meilen. Mit 32 Textfiguren. Preis M. 14.— (zuschlagfrei)

Äther und Relativitätstheorie. Rede, gehalten an der Reichs-Universität zu Leiden von **Albert Einstein.** Preis M. 2.80*

Die Grundlagen der Einsteinschen Gravitationstheorie. Von **Erwin Freundlich.** Mit einem Vorwort von Albert Einstein. Vierte, erweiterte und verbesserte Auflage. Preis M. 10.—*

Raum und Zeit in der gegenwärtigen Physik. Zur Einführung in das Verständnis der Relativitäts- und Gravitationstheorie. Von **Moritz Schlick.** Dritte, vermehrte und verbesserte Auflage. Preis M. 8.—*

Der Aufbau der Materie. Drei Aufsätze über moderne Atomistik und Elektronentheorie. Von **Max Born.** Mit 36 Textabbildungen. Preis M. 8.60*

Die Relativitätstheorie Einsteins und ihre physikalischen Grundlagen. Gemeinverständlich dargestellt von **Max Born.** Mit 129 Textabbildungen und einem Porträt Einsteins. (Bildet Band III der **Naturwissenschaftlichen Monographien und Lehrbücher,** herausgegeben von den Herausgebern der „Naturwissenschaften" Arnold Berliner und August Pütter.) Preis M. 34.—*; gebunden M. 42.—* Vorzugspreis für Abonnenten der „Naturwissenschaften" M. 30.—*; gebunden M. 38.—*

Relativitätstheorie und Erkenntnis a priori. Von **Hans Reichenbach.** Preis M. 14.—*

Die Quantentheorie. Ihr Ursprung und ihre Entwicklung. Von **Fritz Reiche.** Mit 15 Textfiguren. Preis M. 34.— (zuschlagfrei)

* Hierzu Teuerungszuschläge

FILTRIR PAPIER

CARL SCHLEICHER & SCHÜLL
RFP
Eingetr. Schutzmarke

In unerreichter Vollkommenheit und Vielseitigkeit liefern wir auf Grund 30jähriger Erfahrung unsere

Filtrirpapier-Sonderheiten

für die Zwecke der Technik und analytischen Chemie.
Beim Einkauf achte man auf unsere in allen Kulturstaaten eingetragenen Etiketten und Schutzmarken.

Carl Schleicher & Schüll, Düren (Rheinland)

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

Vor kurzem erschien:

Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe

Von

Prof. Dr. **Karl Freudenberg**
Privatdozent an der Universität Kiel

Preis M. 22.— (und Sortimentszuschlag)

Zu beziehen durch jede Buchhandlung

Hierzu eine Beilage der Verlagsbuchhandlung **Julius Springer** *in* **Berlin W 9**

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig

STACKS

141715